

**VERSUCHE ZUR ANALYSE DER VERERBUNG
VON PEROXIDASE-ISOENZYMUSTERN DER DOUGLASIE,
Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco,
ANHAND VON VEGETATIVEM MATERIAL:
NADELN UND SOMATISCHEN CALLUSKULTUREN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Forstwissenschaftlichen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i.Br.

vorgelegt von
Arnold Steinhauer
aus Iglau, Mähren

1980

1979

**VERSUCHE ZUR ANALYSE DER VERERBUNG
VON PEROXIDASE-ISOENZYMUSTERN DER DOUGLASIE,
Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco,
ANHAND VON VEGETATIVEM MATERIAL:
NADELN UND SOMATISCHEN CALLUSKULTUREN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Forstwissenschaftlichen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i.Br.

vorgelegt von
Arnold Steinhauer
aus Iglau, Mähren

1979



Dekan: Prof. Dr. Rolf Grammel
Leiter der Arbeit: Prof. Dr. Dr. Hans Marquardt
Referent: Prof. Dr. Dr. Hans Marquardt
Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. Michail Prodan
Tag der Promotion: 21.1.1980

GLIEDERUNG

Abschnitt		Seite
1	<u>EINLEITUNG</u>	1
2	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	2
21,	<u>Material</u>	
21,1	zu den methodischen Vorversuchen	
21,11.	Diprion pini (L.) (Insecta: Hymenoptera: Dipsionidae) als Modellobjekt	
21,12.	Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco, in Vorversuchen	
21,12.1	mit Nadelextrakten	
21,12.2	mit Extrakten aus Gewebekulturen	
21,2	zum Hauptversuch: Douglasien-Kreuzungs- material	3
21,21.	Ursprung des Materials und Auswahl- kriterien	
21,22.	Verwendete Genotypen	
22,	<u>Methoden</u>	6
22,1	Gewebekulturen	
22,11.	Explantation	
22,12.	Nährmedien	
22,13.	Unterbringung der Kulturen	
22,2	Probenahme und Extraktion für die Elektro- phorese	7
22,3	Elektrophorese	8
22,4	Färben der Gele	
22,5	Beurteilung der Muster	

Abschnitt	Seite
3	<u>ERGEBNISSE</u> 11
31,	<u>zur Methodik</u>
31,1	an Diprion pini als Modellobjekt
31,11.	Darstellung der Muster als Phänotypen
31,11.1	Die Bandenpaare X und Y
31,11.2	Die unscharfen Zonen Z1 und Z2 13
31,12.	Genetische Interpretation der Phänotypen
31,12.1	Die Banden
31,12.2	Die unscharfen Zonen 15
31,13.	Konsequenzen aus dem Modell
31,2	an Douglasien 16
31,21.	an Nadelmaterial
31,21.1	an KO
31,21.2	an Eltern gezielter Kreuzungen 18
31,22.	an Callusmaterial
31,23.	Konsequenzen aus den Douglasien-Vorversuchen 23
32,	<u>Hauptversuch Kreuzungsmaterial</u> 24
32,1	Nadelextrakte des Kreuzungsmaterials
32,11.	Darstellung der Phänotypen
32,11.1	Die Muster der Eltern 28
32,11.2	Die Muster der Nachkommen im Vergleich mit denen der Eltern 29
32,12.	Genetische Interpretation der Muster
32,12.1	Die Bandenpositionen e und g 31
32,12.2	Die übrigen Positionen mit starken Banden 40
32,12.21	Die Hypothese zur Position b 41
32,12.22	Die Hypothese zur Position h 45
32,12.3	Die schwachen Banden 49
32,12.31	Die Position a
32,12.32	Die Positionen c, d, f und i 50
32,13.	Konsequenz aus den Ergebnissen von 32,1 55
32,2	Gewebekulturextrakte des Kreuzungsmaterials 56
32,21.	Darstellung der Phänotypen
32,21.1	Die Muster der Eltern 64
32,21.2	Die Muster der Nachkommen im Vergleich mit denen der Eltern 69
32,21.21	Die Repräsentanzindizes
32,21.22	Die Repräsentanzquotienten 77
32,22.	Interpretation der Muster 88
32,23.	Konsequenz aus den Ergebnissen von 32,2 94

Abschnitt		Seite
4	<u>DISKUSSION</u>	95
41,	<u>Ausgangspunkt, grundsätzliche und allgemeine Betrachtung zu den Voraussetzungen der Untersuchungen</u>	
41,1	Praktischer Bedarf, Anspruch aus der Gesetzgebung und Realisierbarkeit	
41,2	Die Isoenzymmethode als Instrument zur Genotypenidentifizierung an Waldbäumen	96
41,3	Vorteile und Problematik von Peroxidase-Isoenzymen als Genmarker	100
41,4	Zum Ansatz der Versuche	109
42,	<u>Diskussion der Ergebnisse auf der Basis der in Abschnitt 41, zusammengefaßten Voraussetzungen</u>	113
42,1	Die Vorversuche	
42,11.	Das Modellexperiment mit <i>Diprion pini</i> und seine Bedeutung für die Untersuchungen an der Douglasie	
42,12.	Die Vorversuche mit Douglasienmaterial	118
42,2	Der Hauptversuch	120
42,21.	Die Nadelextraktmuster	
42,21.1	Die Chimären-Hypothese für den Elter D	121
42,21.2	Zur Frage der Dominanz zwischen Isoenzymbanden	122
42,22.	Zur Interpretation der Callusmuster	128
43,	<u>Schlußbetrachtung</u>	129
5	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	131
6	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	134
7	<u>ANHANG</u>	142
71,	<u>Homogenisierlösung</u>	
72,	<u>Polyacrylamidgel-Elektrophorese</u>	
72,1	Anfertigung der Gele	
72,11.	Vorratslösungen	
72,12.	Gelpräparation	143
72,13.	Elektrophorese	
73,	<u>Statistische Hilfsmittel</u>	147
73,1	Chi-Quadrat-Anpassungstest	
73,2	Varianzanalyse	150
73,3	Bestimmtheitsmaß	151

Die vorliegende Arbeit geht von der bei MUHS (1971, Abschnitt 4.8) formulierten und anderweitig (siehe hier, Abschnitt 41,) von einer Vielzahl von Experimenten gestützten Annahme bzw. Evidenz aus, daß Isoenzymuntersuchungen ein geeignetes Instrument der Genotypenidentifizierung sind und deshalb zur Beobachtung der genetischen (genotypischen) Strukturen von Populationen und zur Überwachung von deren Veränderungen - z.B. im Rahmen von Züchtungsprogrammen - eingesetzt werden können.

Zweck der Untersuchung war es, Kriterien zur unmittelbaren Übertragung der Isoenzymtechnik auf vegetatives Material der Douglasie zu entwickeln und zu diskutieren. Von dem Modell, das MUHS (1971) mit seinen Untersuchungen an *Drosophila melanogaster* errichtet hat, weichen die vorliegenden Versuche, obgleich sie in der Hauptsache davon ausgehen, in einigen wesentlichen Punkten ab:

1. Es handelt sich um ein pflanzliches und somit physiologisch-chemisch völlig anderes Objekt, das zudem in vitro kultiviert wurde
2. Das Extraktionsverfahren mußte an das Objekt angepaßt werden
3. Die elektrophoretischen Bedingungen waren verändert
4. Es wurde an dem genetisch völlig unbekannten Objekt eine Isoenzymgruppe untersucht, deren genetische Relevanz nicht experimentell etabliert ist.

Vor- und Hauptversuche waren deshalb so anzusetzen, daß eine Beurteilung der Methode aus den Ergebnissen (und umgekehrt) möglich wird:

-) In Vorversuchen wurde
 - =) ein Modellobjekt mit überschaubaren genetischen Verhältnissen eingesetzt und
 - =) die im Sinne von MUHS (1974) unterstellte Stabilität der Peroxidasemuster am Objekt und an der Methode getestet.
-) Im Hauptversuch wurde Material aus gezielten Kreuzungen verarbeitet, so daß eine Kontrolle der Hypothesen durch das Verhalten der Banden im Erbgang ins Auge gefaßt werden konnte.

2 MATERIAL UND METHODEN

21, Material

21,1 Zu den methodischen Vorversuchen

21,11. *Diprion pini* (L.) (Insecta: Hymenoptera: Diprionidae) als Modellobjekt

Bei *Diprion pini* sind - wie bei anderen Hymenopteren auch - die ♂♂ stets haploid und gehen aus unbefruchteten Eiern hervor, während die ♀♀ diploid sind und aus befruchteten Eiern entstehen. Es wurde eine Stichprobe von insgesamt 29 Individuen (14 ♂♂ und 15 ♀♀) aus einer willkürlich gewählten Zucht verwendet, wie in Uebersicht 3 (unter Abschnitt 31,11.1) zusammengestellt ist. Soweit Imagines eingeschlossen sind, wurden sie am 3. Tag (Bildtyp 8) bzw. am 8. Tag (Bildtypen 13 bis 15) nach dem Verlassen des Kokons extrahiert. Die Extrakte wurden sofort bis 4 Tage nach der Bereitung elektrophoretisch aufgetrennt; hier werden die Ergebnisse der Esterasenanfärbung gezeigt.

21,12. *Pseudotsuga menziesii* (Mirb., Franco), in Vorversuchen

21,12.1 Mit Nadelextrakten

Eine etwa 7-jährige, im Versuchsgarten des Waldbauinstituts der Universität Freiburg freistehende Douglasie wurde im Vorversuch zur Variation der Extraktionsverfahren als Kontrollbaum willkürlich ausgewählt. Eine nennenswerte Anzahl ihrer Nadelextrakte wurde auch auf Peroxidasen angefärbt. Sie erhielt die Bezeichnung K0.

21,12.2 Mit Extrakten aus Gewebekulturen

Von einer Reihe weiterer Douglasien wurden Gewebekulturen angelegt, die zur Methodenprüfung extrahiert und elektrophoretisch getrennt wurden. Ihre Herkunft spielt in diesem

Rahmen keine Rolle, sie können als willkürlich ausgesucht angesehen werden. Die Isoenzymmuster von 4 dieser Genotypen, bezeichnet mit X.1 bis X.4, werden exemplarisch abgehandelt.

21,2 Material zum Hauptversuch: Douglasienkreuzungsmaterial

21,21. Ursprung des Materials und Auswahlkriterien

In der Abteilung C für Forstpflanzenzüchtung der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt in Escherode waren (etwa im Jahre 1954) als Zuchtbäume anerkannte Douglasien aus verschiedenen deutschen Wuchsgebieten auf Sämlinge abgepfropft und die Pfropflinge immer, wenn sie blühten, gelenkt gekreuzt worden. Die Zuchtbäume stammen aus verschiedenen Samenimporten aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie und sind in der Zeitspanne zwischen 1881 und 1910 in Deutschland angepflanzt worden (siehe Uebersicht 1, "Herkunft der Elternbäume").

Es handelt sich also um einzelne Angehörige mit größter Wahrscheinlichkeit verschiedener Wildpopulationen, so daß bei der starken genetischen Variation der Art von vornherein erblich bedingte Unterschiede zwischen den Individuen zu erwarten sind. Im Detail nicht quantifizierte Unterschiede der Bäume in Habitus und Phänologie unterstützen diese Annahme. Das Alter der Nachkommen liegt zwischen 10 und 20 Jahren.

21,22. Verwendete Genotypen

Aus dem Kreuzungsmaterial wurden 6 Genotypen als Eltern (Versuchsbezeichnungen A, B, C, D, E, K) ausgewählt. Wie aus dem Kreuzungsschema ersichtlich, konnten Nachkommen aus reziproken Kreuzungen der Eltern B, C und E einbezogen werden; zur Ergänzung standen Nachkommen aus Kreuzungen jedes der 3 übrigen Eltern mit B und C zur Verfügung.

Bezeichnung
des Zucht-
baumes

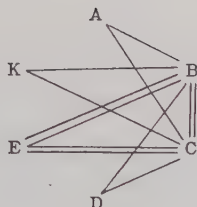
K a r t e i a n g a b e n

nach Versuchskartei der NFV - Abt. C

im Ver- such	im Re- vier	Eigentümer/Stand- platz (Forstort etc.)	a. d. Jahre	Alter	Höhe	BHD	Rinde/ Borke	Beastung	Angaben nach Auskünften der Eigentümer zur Provenienz des Saatgutes
A	B 4	staatl.FA Braunlage Rf. Hohegeiß 225	1954	69	30,1	48			
B	La7(1)	fürstl.Wittgen- steinsches FA Laasphe 103	1953	72	39,5	60	"idealer Typ"		
C	Lü 2	v. Oheimsches Revier Limberg/ Lübbecke 12 e	1953	72	36	65	fein	waage- recht	aus Nordamerika anläßl.der Reise vom Eigentümer selbst mitgebr. Saatgut, Herkunft etwa Oregon/ Washington
D	Lü 1	- " -	1953	72	40	81	fein, unten grob	waage- recht, außen aufrich- tend	
E	Ki1(I)	Frhr.v.Grone, Kirchbrak bei Bodenwerder	1952	67	40	88	grob	grob	von der Samenhand- lung Louis Frère im Elsaß, 1885
K	Kai2(9)	Staatl.FA Kai- serslautern-Ost Dgl.-Versuchs- fläche	1954	44	30	35	fein	mittel- fein	Provenienzversuch Zon/Schwappach; 19 Prov. aus USA; diese: 48.2°N 121,5°W, 150-180 m ü.NN

Uebersicht 1: Angaben zur Herkunft der Elternbäume

Kreuzungsschema



Die Verbindungslinien zwischen den Eltern zeigen die Kreuzungen an; Doppellinien: reziproke Kreuzungen.

Für den Gewebekulturteil des Versuchs wurden so viele Nachkommen wie noch verfügbar, höchstens jedoch 10 je Kreuzung, verwendet, im vorbereitenden Nadelextraktversuch einige weniger.

Übersicht 2:

Anzahlen verwendete Nachkommen (Zahlen in Klammern: für Nadelextrakte). Im oberen Teil der Liste: die Eltern, von denen Nachkommen aus reziproken Kreuzungen vorliegen, darunter diejenigen, von denen Nachkommen aus Kreuzungen nur in einer Richtung vorhanden sind. Von oben nach unten: weibliche Eltern (Kurzbezeichnung: P.1), von links nach rechts: männliche Eltern (Kurzbezeichnung: P.2)

Elter	P.2:	B	C	E
P.1				
B			4	10
C		10		9
E		10	5	
A		4	10	
D		4	10	
K		10(8)	10(4)	

Die Nachkommen wurden für den Versuch individuell mit den Buchstaben des weiblichen, danach des männlichen Elters, und mit einer laufenden Nummer von 01 bis 10 bezeichnet. (Z.B. EC 04 ist der 4. einbezogene Nachkomme aus Samenanlagen des Baumes bzw. Mutterklones E, die mit Pollen von C befruchtet worden waren; aus der Kreuzung EC gehen insgesamt 5 Nachkommen hervor, die im Versuch verwendet werden konnten).

22, Methoden

22,1 Gewebekulturen

22,11. Explantation

Von allen einbezogenen Individuen bzw. Genotypen wurde vegetatives Material zur Anlage von Calluskulturen steril explantiert (der Callusstamm CE.06 fiel vor der ersten Elektrophorese aus). Als sicherstes Standardverfahren mit dem höchsten Anteil angewachsener Explantate (schätzungsweise zwischen 85 und 100%) bewährte sich nach Waschen und Abflammen kleiner entnadelter Zweigenden die sterile Entnahme des Nadelprimordienkegels aus der Winterknospe, einschließlich der von oben (apical) zugänglichen Meristempartien.

22,12. Nährmedien

Die Explantate wurden in Einweg-Petrischalen auf sterile Nährböden gesetzt, die im wesentlichen der Rezeptur von MURASHIGE und SKOOG (1962) folgten. Zur Callusanzucht wurden als Phytohormone 6-Furfuryl-aminopurin (1mg/Liter) und 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (7,5 mg/Liter) zugesetzt. Die Lösung wurde mit 6% Agar verfestigt. Zur Aufbewahrung während des Calluswachstums wurden die Schalen mit Parafilmstreifen infektionssicher aber nicht absolut gasdicht verschlossen.

22,13. Unterbringung der Kulturen

Von der Explantation bis zur Extraktion wurden die Petrischalen im Labor auf Regalen aufbewahrt. 4 bis 6 Wochen nach der Explantation waren die Calli i.d.R. groß genug, um für die Subkultivation oder die Extraktion verwendet werden zu können. Zur Subkultivation wurden die Calli in Stücke geeigneter Größe (je nach vorhandener Menge und Bedarf) geschnitten und auf neue Platten gesetzt.

22,2 Probenahme und Extraktion für die Elektrophorese

Als Proben für den Genotyp wurden i.d.R. ganze Calli, zum Vergleich gelegentlich auch verschiedene mit freiem Auge abgegrenzt erscheinende Teile der Calli, sowie letztjährige Nadeln und Winterknospen, bei *D. pini* jeweils 1 ganzes Individuum, verwendet.

Das zur Extraktion vorgesehene Material wurde mit etwa der gleichen Menge Polyclar-AT (unlösliches Polyvinylpyrrolidon, durch 10 Min. Kochen in 10% HCl hydrolisiert) und einigen Tropfen der Homogenisierlösung (s. Rezept im Anhang) gemischt, so daß nach Mazeration ein weicher Brei entstand.

Zum Mazerieren wurde der Mikro-Dismembrator der Firma Braun (Melsungen) eingesetzt; mit diesem wird die Probe in einem 5-ml-Teflonbecher durch eine Wolframcarbidkugel zerschlagen (Dauer: 20 sec. je Probe). Der entstandene Brei wurde mit Hilfe einer 10-ml-Einwegspritze, vor deren Ausgang ein Filterplättchen aus einigen Lagen eines handelsüblichen, nicht imprägnierten Papiermaterials (Kleenex- oder Tempotücher) gelegt worden war, unter mäßigem Druck filtriert (von Hand oder mit einer einfachen Hebeleinrichtung ausgepreßt; Normierung des Drucks durch die Festigkeit des Papierfilters). Der so gewonnene Preßsaft gelangte ohne weitere Reinigung zur Elektrophorese.

Das beschriebene Extraktionsverfahren wurde nach einem ausgiebigen Vortest, in dem ca. 90 nach Quantitäten oder Qualität voneinander verschiedene Verfahrensschritte zu 60 Verfahrenstypen komponiert waren, trotz Unterlegenheit gegenüber anderen Verfahren (insbes. den Verfahren mit Tiefkühlung durch flüssigen Stickstoff und Proteinfällung durch tiefgekühltes Aceton) als das unter den gegebenen Voraussetzungen einzig praktikable ausgewählt, bei dem im Douglasien-Material wenigstens gelegentlich auch andere Enzyme als Peroxidasen nachgewiesen werden konnten.

22,3 Elektrophorese

Soweit Versuche mit Stärkegel-Elektrophorese in diese Zusammenstellung mit einbezogen sind, folgte das gesamte Verfahren in den Grundzügen der von MUHS (1971 und 1975) verwendeten Methode.

In Vorversuchen zeigte sich die Polyacrylamid-Elektrophorese der Stärkegel-Elektrophorese besonders in der Darstellung schwacher Banden durch die bessere Transparenz der Gele überlegen. Deshalb wurde in Anlehnung an andere üblicherweise verwendete Apparaturen eine Elektrophoresekammer entwickelt und im Forstbotanischen Institut gebaut, in der ein 2 mm starkes, 16 cm mal 9 cm großes Gel lotrecht montiert werden kann, das zur Trennung von 20 Proben gleichzeitig geeignet ist.

Das Gel kann - im Gegensatz zu den herkömmlichen Apparaturen - durch den Elektrodenpuffer gekühlt werden. Die 7,5 prozentigen Gele wurden in Abwandlung des Gelsystems "Rezept Nr. 6" bei MAURER (1968) unter Adaption des Poulik-Puffersystems (POULIK, 1957) aus den im Anhang tabellierten Lösungen gefertigt.

Die Gelpräparation folgte im wesentlichen den üblichen Verfahren (Beschreibung der Apparatur und Arbeitsanweisung im Anhang).

22,4 Färben der Gele

Die Peroxidasebanden wurden durch die allgemein verwendete H_2O_2 -Benzidin-Reaktion im Gel sichtbar gemacht. Sie erschienen innerhalb weniger Minuten und begannen nach etwa einer halben Stunde zu verblassen.

22,5 Beurteilung der Muster

Ursprünglich wurden die Banden mit dem Stechzirkel vermessen oder durch Orientierung an einem Referenzmuster lokalisiert und in Protokollzeichnungen übertragen. Die Zeichnung gab

auch die Intensität und Gestalt der Banden (z.B. schmal oder breit, "tailing") leicht stilisiert so wieder, daß die "Morphologie" der Muster erkennbar blieb.

Ohne Berücksichtigung irgendwelcher Versuchsparameter wurde nach diesem "herkömmlichen Verfahren der Zymogrammbeurteilung" die Vorstellung über das "charakteristische Muster" eines Individuums (Klones) in folgender Weise abgeleitet:

- 1) Soweit Wiederholungen vorliegen, wurden Banden dann als charakteristisch für ein Individuum
 - a) anerkannt, wenn sie
 -) immer im Zymogramm deutlich (auch wenig intensiv) vorkamen
 -) selten und/oder nicht mit Sicherheit fehlten
 - b) verworfen,
 -) wenn sie nur selten
und/oder außergewöhnlich schwach
und/oder diffus erschienen
 -) wenn ihr (im Einzelfall unerwartetes) Erscheinen auf methodische Einflüsse zurückzuführen war. .
- 2) Wenn für einen Genotyp keine Wiederholungen vorlagen, wurden die Banden gleich behandelt wie in 1a) resp. 1b), wenn sie eine diesen Fällen entsprechende Erscheinung hatten (es wurde also erfahrungsgemäß taxiert, ob man von einer im Gel erschienenen Bande aufgrund ihres Aussehens anzunehmen hat, daß ihr - z.B. auch schwaches - Erscheinen für den betreffenden Genotyp regelmäßig zu erwarten ist oder nicht).

Protokollfotos wurden nur zu Demonstrationszwecken in einigen Fällen gemacht. Dieses Verfahren folgte MUHS (1974).

Es wurde problematisch, wo Gruppen benachbarter Peroxidase-Banden mit abgestufter Intensität, Auflösung und Häufigkeit auftraten. Zur Auswertung solcher Muster wurde folgendermaßen verfahren:

Im Augenblick idealer Ausprägung (nach Erscheinen der schwächsten und - soweit möglich - vor Ueberfärben der

stärksten Banden) wurden die Gele gegen diffuses Licht fotografiert. Durch Anwendung geeigneten Negativmaterials und entsprechender Entwicklung war es möglich, eine fototechnische Vorinterpretation zu vermeiden. Das bedeutet, daß die Negative alle Details wiedergeben, die auf den Gelen mit freiem Auge (und mehr als bei Anwendung des im Institut verfügbaren Vitatron-Densitometers) zu erkennen waren.

Zum Uebertragen der Zymogramme in die Protokoll-Tabellen wurden ausschließlich die Negative verwendet, weil bei der Anfertigung von Kopien Details verlorengehen können. Positivkopien werden nur zur Demonstration und als Orientierungshilfe für die Negativinterpretation verwendet.

Für den Gewebekulturteil des Hauptversuches wurde das Verfahren weiter verschärft:

Innerhalb der Zymogramme wurden - insgesamt für alle Genotypen - 28 Positionen festgestellt, an denen sich Peroxidase-Banden befinden konnten. Diese wurden, willkürlich vom Start her mit 1 beginnend, bis 28 in Frontnähe numeriert.

Den Banden wurden 3 Ausprägungsqualitäten zugeordnet:

- 2: Bande kann - im Vergleich mit einem Referenzextrakt - aufgrund ihrer Intensität, Schärfe und Lage mit Sicherheit einer bestimmten Position zugeordnet werden
- 1: Bande ist so schwach und/oder diffus, daß sie höchstens mit einiger persönlicher Erfahrung als vorhanden und einer bestimmten Position zugehörig erkannt werden kann
- 0: Position sicher nicht mit einer Bande besetzt, die den Kriterien der Qualitäten 2 und 1 entspricht.

3 ERGEBNISSE

31, Ergebnisse zur Methodik

31,1 Ergebnisse an *Diprion pini* als Modellobjekt

31,11. Darstellung der Muster als Phänotypen

Die gefundenen Bandenkonstellationen sind in der Interpretationszeichnung (Uebersicht 3) - geordnet nach Geschlechtern und Stadien - zusammengestellt. Neben einer Gruppe von Banden, die in allen Zymogrammen sehr schwach oder nicht erscheinen, (im Bild als "schlecht reproduzierbar" gekennzeichnet), wurden Esterasen in zwei unscharfen Zonen ("Zone 1" = Z1 und "Zone 2" = Z2) und in 4 scharfen Banden sichtbar.

31,11.1 Die Bandenpaare X und Y

Die 4 Banden lassen sich in 2 Paare, X und Y, auftrennen, die sich in beiden Geschlechtern gleich, aber in den Entwicklungsstadien verschieden verhalten:

Das Paar X wurde in allen getesteten Stadien nachgewiesen, doch läßt die Intensität der Banden mit fortschreitender Entwicklung nach: bei reifen Imagines erscheinen sie schwach oder nicht. Die gefundenen Phänotypen werden wie folgt bezeichnet: bei den ♂♂ : XS oder XF

bei den ♀♀ : XS oder XSXF.

Dabei benennt S die langsamere Bande ("Slow") und F die schnellere ("Fast").

Das Paar Y erscheint in "sicherer" Ausprägung frühestens im Puppenstadium. Es traten folgende Phänotypen auf:

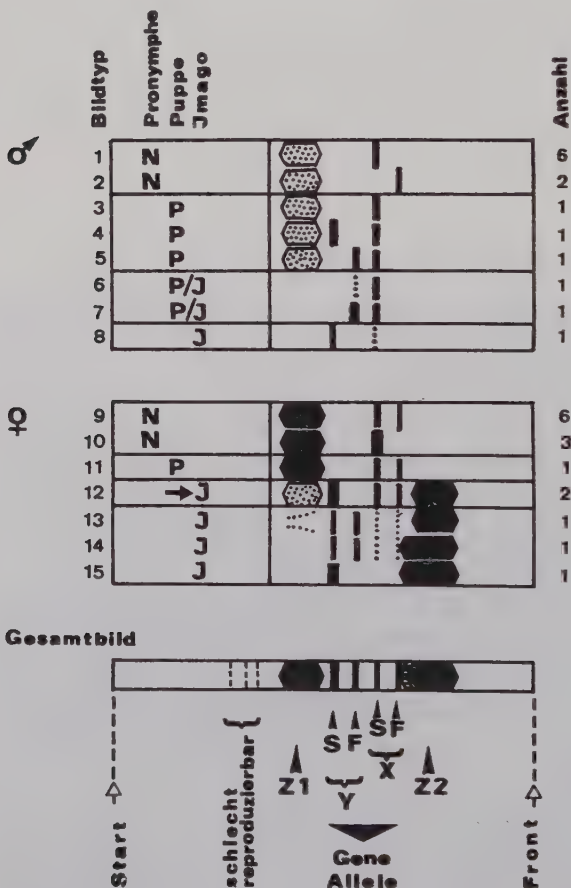
bei den ♂♂ : YS oder YF

bei den ♀♀ : YS oder YSYF.

Phänotypen "ohne Banden" des Paares X oder Y werden mit XO oder YO bezeichnet.

Uebersicht 3:

Isoenzymmuster (Esterasen) des Modellobjekts *Diprion pini*, tabelliert nach den verschiedenen beobachteten Bildtypen in den einzelnen Entwicklungsstadien des Insekts (Pronymphe, Puppe, Imago), mit Angabe der Anzahl der Individuen, für die das betreffende Muster festgestellt wurde. Im Gesamtbild (unten) sind - neben den nicht näher betrachteten "schlecht reproduzierbaren Banden" - die einzelnen, im Text dargestellten Elemente der Muster beschriftet: die beiden unscharfen Zonen Z1 und Z2, sowie die S- und die F-Banden der beiden Genorte X und Y.



31,11.2 Die unscharfen Zonen Z1 und Z2

Die beiden unscharfen Zonen verändern sich im Lauf der Entwicklung und verhalten sich in den Geschlechtern verschieden:

Z1 erscheint in der Pronymphe ("N") beim ♀ deutlich intensiver als beim ♂. Sie wird mit fortschreitender Entwicklung schwächer und ist bei ♂♂ bereits bei beginnender Ausfärbung ("P/I"), bei ♀♀ in der Imago nach dem Schlüpfen ("I") nicht mehr nachzuweisen.

Z2 wird nur bei ♀♀ nach Beendigung des Puppenstadiums gefunden. Vor dem Verlassen des Kokons ("→I") ist sie deutlich weniger ausgedehnt als danach ("I").

31,12. Genetische Interpretation der Phänotypen

31,12.1 Die Banden

Das Verhalten der 4 Banden läßt im Zusammenhang mit den Ploidie-Verhältnissen der Species einfache Schlüsse auf übersichtliche genetische Steuerung dieser Merkmale zu:

Das voneinander unabhängige Erscheinen bzw. Verschwinden der beiden Bandenpaare in der Individualentwicklung läßt sich durch das Ein- bzw. Ausschalten je eines zuzuordnenden Genortes X bzw. Y erklären.

In Uebersicht 4 sind - getrennt für ♂♂ und ♀♀ - die Anzahlen der Individuen zusammengestellt, die bei den einzelnen Kombinationen der 4 Merkmale X und Y, jeweils S und/oder F gefunden wurden. Die innere Zeile bzw. Spalte des Tabellenkopfes gibt die entsprechende unterstellte Allelenkombination in den beiden Genorten X und Y an, so daß die Anzahl der gefundenen hypothetischen Genotypen direkt abgelesen werden kann. Z.B. wurden 2 ♀♀ gefunden, für die in beiden Genorten Heterozygotie, also die Allelenkombination X^{SX^F} , Y^{SY^F} , unterstellt wird, und 7 weitere, für die am Genort X Heterozygotie festgestellt wird, bei denen jedoch wegen Inaktivität des

Locus Y zur Zeit der Extraktion keine Hypothese über die Y-Allele gemacht werden kann (Schreibweise Y^U bedeutet Allelenkonstitution im Genort Y ist unbekannt; entsprechend bei X^U). Die Schreibweise der Phänotypen und der Genotypen folgt MUHS (1971).

Uebersicht 4:

Diprion pini (Esterasen): Zusammenstellung der denkbaren Genotypenkombinationen aus den hypothetischen Allelen S und F der Genorte X (2. Zeile im Tabellenkopf und Y (2. Spalte), der denkbaren Phänotypen (1. Zeile bzw. Spalte des Tabellenkopfs), sowie der experimentell gefundenen Phänotypen (Zahlen in der Tabelle)

für ♂♂ (haploid)

Phänotyp	Genotyp	XS X^S	XF X^F	XO (X^U)
YS	Y^S	2		
YF	Y^F	3		
YO	(Y^U)	7	2	

für ♀♀ (diploid)

Phänotyp	Genotyp	XS $X^S X^S$	XSXF $X^S X^F$	XF $X^F X^F$	XO (X^U)
YS	$Y^S Y^S$		2		1
YSYF	$Y^S Y^F$		2		
YF	$Y^F Y^F$				
YO	(Y^U)	3	7		

Die gefundenen Kombinationen der phänotypischen Merkmale führen zu dem aus dem Material nicht widerlegbaren Schluß auf die Determinierung der "Slow"- und "Fast-Banden" durch je ein "Slow- und ein "Fast-Allel" in den beiden Genorten X und Y.

Die 4 Banden erscheinen in irgendeiner Phase der Individualentwicklung als qualitative Merkmale. Sie können als phänotypischer Ausdruck klar zugeordneter und im betreffenden Stadium vollständig penetranter, codominanter Allele interpretiert werden.

31,12.2 Die unscharfen Zonen

Geringere Intensität in Z1 bei den ♂♂ und die Koinzidenz des Verschwindens von Z1 in beiden Geschlechtern mit dem Erscheinen von Z2 bei den ♀♀ legen die Vermutung nahe, daß Z1 Ausdruck erhöhter Esteraseaktivität in Zusammenhang mit der Gonadenreifung ist. Die Koinzidenz des Auftretens von Z2 mit der Imaginalreifung (Abschluß des Puppenstadiums und Aushärten bis zum Verlassen des Kokons) der ♀♀ und das Fehlen von Z2 bei den ♂♂ weisen ohne weiteres darauf hin, daß es sich hierbei um Esterasen der reifenden oder reifen Eier handelt.

31,13. Konsequenzen aus dem Modell

Zusammenfassend ergibt sich somit aus dem Modellfall, daß die angewendete Methodik (parallel zum genetisch bekannten Modellobjekt *Drosophila melanogaster* und zur damit etablierten Stärkegeltechnik: MUHS, 1971 und 1975) grundsätzlich geeignet ist,

- 1) andere Enzyme als Peroxidasen der elektrophoretischen Auswertung zugänglich zu machen
- 2) bei bekannten oder überschaubaren genetischen Verhältnissen aus dem Isoenzymmuster (als Phänotyp) eine stichhaltige genetische Hypothese zu entwickeln
- 3) nicht unmittelbar genetisch bedingte Variation der Phänotypen auf Variationsursachen (hier: Entwicklungsphysiologie) zurückzuführen.

Somit erscheint auch die spezielle Methode grundsätzlich geeignet, sowohl Genotypen wie auch deren temporäre (hier als Spezialfall: ontogenetisch modifizierte) Ausprägung zu charakterisieren.

31,2 Ergebnisse zur Methodik: an Douglasien

31,21. An Nadelmaterial

31,21.1 An KO

Die nachfolgende, über eine Vegetationsperiode ausgedehnte Liste für die in Stärkegeltechnik getrennten Isoperoxidasen des Kontrollbaumes KO (Uebersicht 5) führte zu einer Vorstellung über die Konstanz der Isoperoxidasebanden des Genotyps: es ließen sich in dieser Hinsicht 3 Gruppen von Banden unterscheiden:

- 1) vollkommen konstante Banden, die immer festgestellt werden: γ , δ und λ
- 2) häufige Banden, die in etwa 2/3 aller Wiederholungen vorkommen: α und κ
- 3) seltene Banden, die in weniger als einer von 10 Wiederholungen auftreten: β , ϵ , η , ζ und ι .

Die Banden der ersten Gruppe sind stets die stärksten im Zymogramm. Auch die Bande κ war, wenn sie festgestellt wurde, gleich stark wie die Banden der 1. Gruppe. Die Bande α erschien oft, wie die Banden der dritten Gruppe fast stets, schwach und diffus.

Nur an einem Probezweig wurde α bei keiner von insgesamt 4 Wiederholungen beobachtet, ansonsten erscheint α bei etwa der Hälfte der Wiederholungen für jeden Probezweig oder häufiger.

Uebersicht 5:

Absolute Häufigkeiten der festgestellten Isoperoxidasebanden α bis λ der Kontrolldouglasie KO, sortiert nach Probezweigen und parallel nach Jahreszeit. Die Häufigkeiten λ sind gleich der Anzahl referierter Wiederholungen

Probezweig			Bande: absolute Häufigkeiten											
Nr.	Tag	Monat	α	β	γ	δ	ϵ	ζ	η	ϑ	ι	κ	λ	
1	4.	4.	12		27	27						26	27	
2	9.		5		5	5							5	
3	13.		4		4	4					1	4	4	
4	27.		13		15	15			3	4	3	1	15	
5	7.	5.	12	1	25	25						3	26	
6	29.		12		13	13						12	13	
7	16.	7.	1		2	2							2	
8	9.	8.	8		8	8						8	8	
9	10.		2		4	4					2	4	4	
10	18.	9.	3		7	7						7	7	
11	9.	10.	4	1	5	5				1	2	5	5	
12	9.				4	4						4	4	
13	16.		16	1	16	16	1				2	16	16	
Summe absolut:			92	3	135	135	1	0	3	5	10	90	136	
in % :			68	2	99	99	1	0	2	4	7	66	100	

In den ab August geschnittenen Probezweigen erscheint die Bande κ bei allen Wiederholungen, während sie bei 4 der 7 ersten Zweige nicht oder nur selten auftritt. Insgesamt erscheint sie bis einschließlich Juli aber immerhin auch in 50% aller Wiederholungen. Die Banden der Gruppe 3 erscheinen gehäuft zu Beginn und zu Ende der Vegetationsperiode, jedoch auch da nur mit geringen relativen Häufigkeiten je Probezweig. Nach dem "herkömmlichen Verfahren" ergibt sich aus derartig gelagerten Beobachtungen ein für das Individuum ohne Rücksicht auf Variationsursachen typisches Muster aus den Banden $\alpha, \gamma, \delta, \kappa, \lambda$ unter Vernachlässigung der seltenen schwachen Banden.

Der Vollständigkeit halber ist hinzuzufügen, daß sich (abgesehen von dem einen Fall, in dem die Banden γ und δ wegen insgesamt zu schwacher Intensität der Färbung fehlten) keine andere Variationsursache als die angedeutete Abhängigkeit vom Jahreszyklus mit dem wechselnden Erscheinen von Banden in Verbindung bringen läßt.

31,21.2 . An Eltern gezielter Kreuzungen

Analog zur Bestimmung des "charakteristischen Isoperoxidasemusters" für KO wurden für andere Genotypen, von denen z.T. nur geringe Zahlen von Wiederholungsläufen auf Peroxidasen angefärbt wurden, auf herkömmlichem Wege die charakteristischen Muster bestimmt (ebenfalls Stärkegeltechnik). Das Foto (S. 19) zeigt eine Reihe von Mustern verschiedener Douglasien, die in verschiedenen Versuchsanstalten als Eltern gezielter Kreuzungen verwendet worden sind. Die zugehörige Interpretationszeichnung (Uebersicht 6) ist ein Beispiel für die "herkömmliche" Darstellung. (Punktierte Banden: das Material ließ keine endgültige Entscheidung über die Zugehörigkeit der betreffenden Bande zum "charakteristischen Muster" zu). Die unter Material und Methoden erwähnten, im Hauptversuch verwendeten Kreuzungseltern sind in diesem Test durch "sichere" Banden gut voneinander unterscheidbar (Uebersicht 7).

Die Banden ξ und ζ sind hier, anders als ξ bei KO, der Gruppe der starken häufigen oder vollkommen konstanten Banden zuzuordnen.

31,22. An Callusmaterial

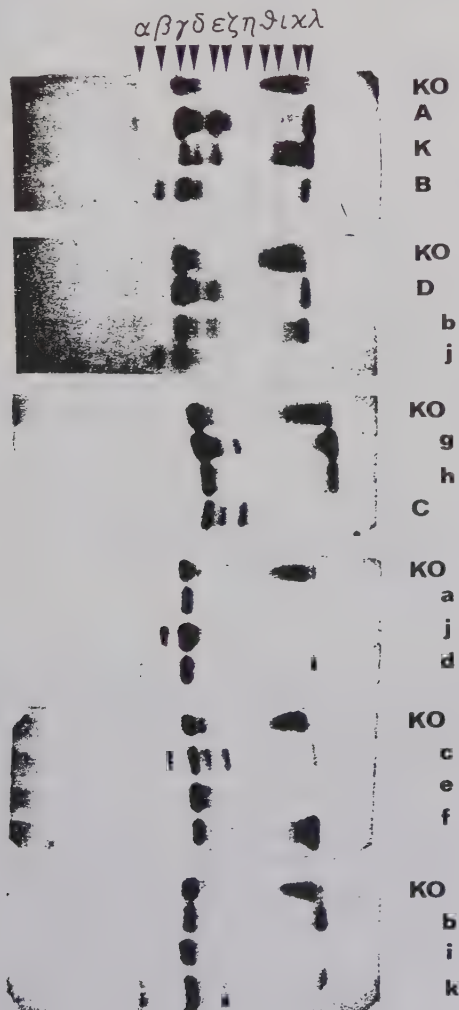
In der folgenden Skizze (Uebersicht 8) werden im oberen Teil die Zymogramme der Individuen X.1 bis X.4 zur besseren Uebersicht zum Teil nicht als Banden- sondern als Punktfolgen dargestellt. Große Punkte bezeichnen die starken, kleine Punkte die schwachen "sicheren", Kreise, die im Einzelfall für

Foto (zu Text S. 18)

Isoperoxidasemuster aus Nadelextrakten verschiedener Douglasien, die als Eltern zur Produktion von Kreuzungsnachkommen verwendet wurden, daneben des Kontrollbaumes KO, in Stärkegeltechnik.

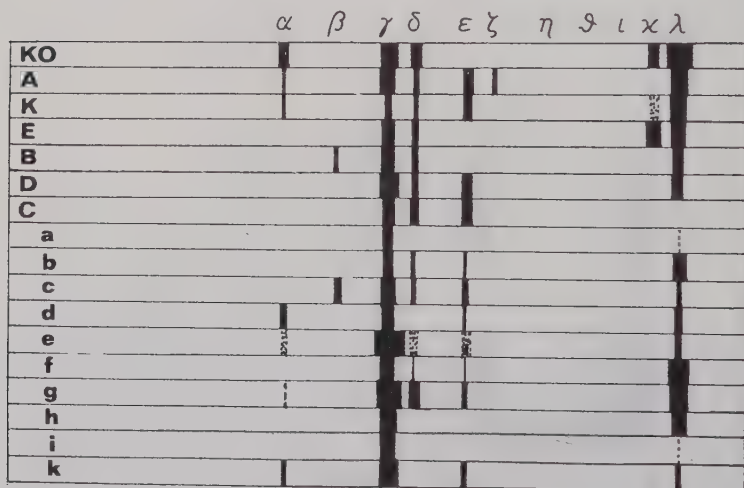
Die mit Großbuchstaben bezeichneten Individuen gehören dem Kreuzungsmaterial an, das dieser Arbeit zugrundeliegt (Abschnitt 21,22.).

Die Banden sind - wie im Text erläutert - vom Start her beginnend mit griechischen Buchstaben bezeichnet.



Uebersicht 6:

"Herkömmliche Darstellung" (s.S. 9) der Douglassiennadel-Iso-peroxidasenmuster aus dem Foto (s.S. 19), mit Beschriftung der Individuen und der Banden. Die Dicke der Banden in der symbolischen Darstellung entspricht ihrer Intensität im Zymogramm; punktierte Banden können nicht als mit Sicherheit zum typischen Muster des Individuums gehörig betrachtet werden.



Uebersicht 7:

Charakteristische Isoperoxidasemuster der Nadelextrakte der Kreuzungseltern in Stärkegeltechnik

	α	β	γ	δ	ϵ	ζ	η	ϑ	i	x	λ
A	α		γ	δ	ϵ	ζ					
K	α		γ	δ	ϵ						λ
B		β	γ	δ							λ
D			γ	δ	ϵ						λ
C			γ	δ							
E			γ	δ						x	λ

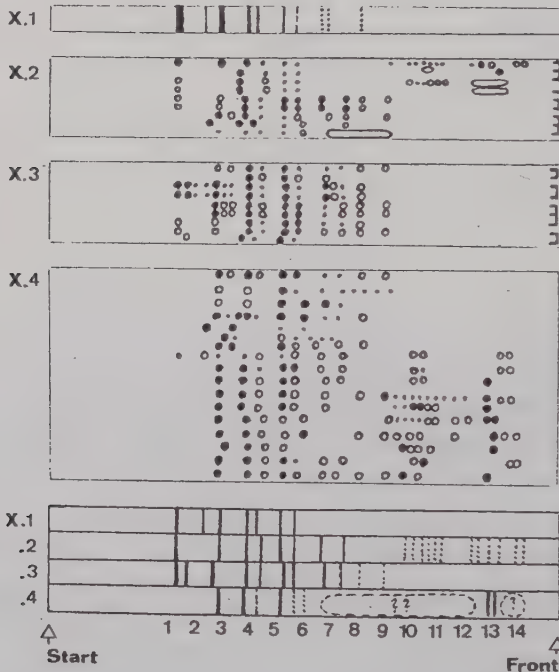
nicht sicher charakteristisch angesehenen Banden. Die Trennstrecke wurde in 14 nummerierte Bereiche eingeteilt, um die Banden, die sich nicht wie im Hauptversuch auf genaue Positionen festlegen ließen, bezeichnen zu können. Es ist besonders bemerkenswert, daß das Muster von X.1 praktisch keinerlei Variation zeigt; in allen Wiederholungen (die deshalb nicht einzeln angeführt sind) wurde ein Muster aus 5 deutlichen und zwei weiteren schwachen aber "guten" Banden (Bereiche 5 und 6) festgestellt. Die punktierten Banden (Bereiche 7 und 8 traten in einem einzigen Zymogramm in der Qualität "unsicher" auf. Da dieser Stamm in einigen Vorversuchen und für Referenzextrakte verwendet wurde, liegt eine sehr große Anzahl Wiederholungen für X.1 vor.

Die wesentlichsten der berücksichtigten Versuchsvarianten waren:

-) Alter der Calli bei Extraktion, gerechnet
 - ab Explantation (wenige Wochen bis 2 Jahre)
 - ab letzter Transplantation (wenige Tage bis mehrere Monate)
 - in Anzahl der Passagen (0 bis ca. 15)
-) Unterbringung der Calli während des Wachstums:
 - bei konstanter Temperatur ohne Licht
 - mit Dauerlicht
 - (abgestufte Intensität)
 - mit Fotoperiode
 - (verschieden lang)
 - bei Foto- und Temperaturperiode
 - bei unkontrollierten Licht- und Temperaturbedingungen
-) Aussehen, Größe und Konsistenz der Calli (schematische Bonitierung nach äußerlich erkennbaren Merkmalen)
-) Extraktionstechnik
-) Alter des Extraktes bei Elektrophorese (wenige Minuten bis mehrere Tage)
-) Elektrophoresetechnik (Stärke- oder Polyacrylamidgel)

Uebersicht 8:

Isoperoxidasemuster von Gewebekulturstämmen aus den vier verschiedenen Douglasien X.1 bis X.4 . Oben: Variation der Muster zwischen Wiederholungen; unten: herkömmlich bestimmte "charakteristische Muster", gegliedert in 14 durchnummerierte Bereiche der Trennstrecke



Mit Ausnahme der Tatsache, daß die Banden in den Bereichen von 6 ab aufwärts in Stärkegeltechnik wegen der geringeren Transparenz der Gele nur ausnahmsweise erkannt werden, hat keine der Versuchsvarianten einen bemerkbaren Einfluß auf qualitative oder quantitative Ausprägung des Musters von X.1 ausgeübt. Die Festlegung des charakteristischen Musters ist somit für X.1 vollkommen problemlos:

es besteht stets aus den 7 Banden in den Bereichen 1 bis 6 (erste Zeile im unteren Teil der Uebersicht 8).

Problematisch ist die "herkömmliche" Festlegung der Muster der übrigen 3 dargestellten Individuen. Für X.2 und X.3 werden alle Wiederholungen (nur in PAA-Technik; Wiederholungen desselben Extrakts jeweils zusammengeklammert) skizziert. Es zeigt sich in 3 Aspekten eine beträchtliche Labilität der Banden:

- 1) Die Positionen auch der Hauptbanden können sich in Relation zur Gesamttrennstrecke und zueinander verschieben
- 2) Die Intensität auch der Hauptbanden kann so stark schwanken, daß sie relativ oft nur schwach oder gar fehlend registriert werden
- 3) Es können ganze Gruppen von Banden (Bereiche 9 bis 14) im Zymogramm fehlen bzw. hinzutreten.

Für X.4 können nicht alle Wiederholungen wiedergegeben werden; es werden nur die verschiedenen aufgefundenen Muster skizziert. Die Schwankungen sind hier dieselben wie bei X.2 und X.3. Sie treten auch zwischen Wiederholungen desselben Extraktes auf.

Ein Zusammenhang zwischen den Schwankungen der Muster und den oben angeführten Versuchsvarianten konnte auch andeutungsweise nicht festgestellt werden.

31,23. Konsequenzen aus den Douglasien-Vorversuchen

Zusammenfassend kann als ein wichtiges Ergebnis dieser Vorversuche festgestellt werden, daß das "herkömmliche Verfahren zur Beurteilung der Zymogramme" in einigen Fällen recht gut, in anderen jedoch nicht zu einer problemlosen Fixierung einer Vorstellung über den einem bestimmten Material zuzuordnenden Phänotyp geführt hat. Offensichtlich erbringt die Methode bestimmte Isoperoxidase-Muster bzw. -Banden, die für definiertes Material mit ausreichender

Konstanz in charakteristischer Anordnung und Intensität reproduzierbar sind und andere, die mehr oder weniger starken Schwankungen unterworfen sind. Diese Schwankungen treten bevorzugt an den schwächeren Banden auf und werden vor allem bei Anwendung der PAA-Technik sichtbar. Bei Callusmaterial lassen sie sich vorläufig keiner Versuchsvariante zuordnen.

32, Hauptversuch Kreuzungsmaterial

Ziele des Hauptversuches waren es, zu zeigen,

- 1) ob Iso-Peroxidasemuster der Douglasien einer einfachen genetischen Interpretation zugänglich sind
- 2) ob auch Gewebekulturen als Ausgangsmaterial dafür verwendet werden können.

32,1 Nadelextrakte des Kreuzungsmaterials

32,11. Darstellung der Phänotypen

Vom Elter C wurden 4 Extrakte angefertigt, die je 2 bis 8 mal elektrophoretisch getrennt wurden. Insgesamt existieren 19 Zymogramme von C. 2 Extrakte wurden von BE.05 angefertigt und je einmal getrennt. Von allen übrigen Individuen wurde je 1 Extrakt angefertigt, der für die Eltern E sechsmal, K viermal, A, B und D sowie für die Nachkommen BC.01 bis .04, KB.01 bis .03 und KC.01 bis .04 je zweimal, für alle übrigen Individuen (nur Nachkommen) je einmal getrennt wurde. (s. Uebersicht 9)

Die Wiederholungen dienten nur dem Zweck, Referenz-Zymogramme auf jedem der PAA-Gele mitlaufen zu lassen. Die charakteristischen Muster wurden "herkömmlich" ermittelt. Sie verhielten sich wie im Stärkegelevortest: bei den wiederholt extrahierten Individuen bzw. den mehrfach getrennten Extrakten ergaben sich keinerlei Unterschiede zwischen Zymogrammen auch verschiedener Extrakte desselben Individuums im Hinblick auf die Ansprache der Banden. Die Muster in

Uebersicht 9:

Anzahl der Zymogramme (pro Extrakt bzw. pro Individuum) aus Nadelextrakten des Douglasien-Kreuzungsmaterials in PAA-Technik

Indiv.- bezeich- nung	Extraktnummer				Gesamtzahl der	
	1	2	3	4	Extrakte	Zymogramme
A	2				1	2
B	2				1	2
C	2	3	8	6	4	19
D	2				1	2
E	6				1	6
K	4				1	4
BE 05	1	1			2	2
BC 01 bis 04						
KB 01 bis 03	je 2				je 1	je 2
KC 01 bis 04						
alle übrigen Nachkommen	je 1				je 1	je 1

PAA-Gel unterschieden sich jedoch, im Gegensatz zum Ergebnis des Vortests mit dem Gewebestamm X.1, von den Mustern in Stärkegel durch Position und Konstellationen der Peroxidasebanden. Das Muster eines Genotyps in PAA-Technik ist deshalb seinem in Stärkegeltechnik erhaltenen nicht vergleichbar, und die Banden wurden der Deutlichkeit wegen nicht mehr mit griechischen sondern mit Antiqua-Kleinbuchstaben bezeichnet. Die Resolution des frontnahen Bereichs (entsprechend etwa dem Bereich der Banden Theta bis Lambda der Stärkegelmuster) war in diesem PAA-Versuch unbefriedigend, so daß dieser Bereich aus der Betrachtung ausgeschlossen wurde. Damit stehen noch 9 Bandenpositionen, auf denen gut aufgelöste Banden in individuellen Kombinationen gefunden wurden, zur Diskussion.

Hinsichtlich ihrer Intensität sind die Banden deutlich verschiedenen Gruppen einzuordnen: die Banden a, c, d, f und i erschienen stets schwächer, die Banden b, g, e und h stärker, ohne Beeinflussung der Deutlichkeit (insbesondere der Schärfe). War die Deutlichkeit der Banden, gleichgültig ob der grundsätzlich stärkeren oder der grundsätzlich schwächeren, im einzelnen Zymogramm beeinträchtigt, so wurde dies besonders berücksichtigt (s.u.).

Im folgenden werden die charakteristischen Muster aller einbezogenen Individuen, zunächst der Eltern (Uebersicht 10), danach der Nachkommen (diese gruppiert nach den einzelnen Kreuzungen, Uebersicht 11) angeführt. Banden, die bei den nicht wiederholten Individuen außergewöhnlich schwach oder nicht mit Sicherheit als charakteristisch angesehen wurden, sind als "schwache" Banden (* anstelle der Bandenbezeichnung) gelistet, wenn die Vermutung eher für ihre Anerkennung, als "zweifelhaft" (Apostroph anstelle der Bandenbezeichnung), wenn sie eher dagegen sprach. Bei der Auswertung der Muster ist also im Zweifel die Tendenz zu verfolgen, "schwache" Banden eher aufrechtzuerhalten, "zweifelhafte" eher zu verwerfen, wenn nicht wesentliche Gründe aus der Interpretation dagegen sprechen.

Uebersicht 10:

Charakteristische Isoperoxidasemuster von Nadelextrakten der Eltern aus dem Douglasien-Kreuzungsmaterial in PAA-Technik

B	a	b	c				h
C		b	c	d	e	f	h i
D		b	c	d	e	f	h i
E		b	c				h i
K		b				g	h
A		b					

Charakteristische Isoperoxidasemuster von Nadelextrakten der
Nachkommen aus Douglasienkreuzungsmaterial in PAA-Technik

1)	A		b			
	B	a	b	c		h
	AB.	.01	b	c	f	h i
		.02	b	c	f	h i
		.03	b	c	f	h i
		.04	b	c	*	h i

2)	A	b					
	C	b	c	d	e	f	h i
	AC.10	b	c	*	e	f	h i
	.01	b	c	d	e	f	
	.07	b	c	d	e	f	
	.06	b	c	d	*	f	
	.02	b	c	*	e	f	
	.08	b	c		e	f	h
	.03	b	c		e	f	
	.09	b	*		e	*	
	.04	b	c				h i
	.05	b	c				h

3)	B	a	b	c			h
	C		b	c	d	e	f
	BC.01		b	*	*	e	f
	.02		b	*	*	e	f
	.04		b	*	*	e	f
	.03		b	c			

4)	B	a	b	c		h
	E		b	c		h i

5)	C		b	c	d	e	f		h	i	
	B		a	b	c				h		
	CB.04			b	c	d	e	f		h	i
	.08			b	c	d				h	i
	.05			b	c	'				h	i
	.06			'	'	'				h	i
	.01			b	'		e	'		h	'
	.02			b	c		e			h	
	.09			b	c				g	h	i
	.03			b	c					h	i
	.10			*	*					h	i
	.07								g	h	

BE.01) b c h i
bis.10)

6)	C	b	c	d	e	f	h	i
	E	b	c				h	i
	CE.08	b	c	*			h	i
	.09	b	c	*			h	i
	.10	b	c	*			h	i
	.07	b	*		e	'	h	'
	.01	b	'		e	'	h	'
	.02	b	'		e	'	h	'
	.05	b	c		e		h	'
	.04	b	c				h	'
	.03	'					h	i

7)	D	b	c	d	e	f	h	i
	B	a	b	c			h	
	DB.03	b	c	*	e		h	i
	.04	'	'	'			h	i
	.01	b	'	*			h	
	.02	b	*		e		h	

8)	D	b	c	d	e	f	h	i
	C	b	c	d	e	f	h	i
	DC	b	c	d			h	i
	.10	b	*	'			h	
	.05	b	c			g	h	i
	.06	b	c			g	h	i
	.04	b	c			g	h	*
	.03	b	c				h	
	.07	b	'				h	
	.08		'	'			h	*
	.01		c			g	h	
	.02						h	

9)	E	b c	h i
	B	a b c	h
	EB.01)	b c	h i
	bis.10)	b c	h i

10)	E	b	c				h	i
	C	b	c	d	e	f	h	i
	BC	.03	b	c		e	f	h
		.01	b	c		e		h
		.05	b	c		e		h
		.02	b	c				h
		.04	b	c				h

11)	K	b			g	h
	B	a	b	c		h
	KB	.08	b	c	d	h
		.06	b	c	d	h
		.01	b	c	e	h
		.02	b	c		g
		.03	b	c		h
		.04	b	c		g
		.05	b	c		h
		.07	b	c		h

12)	K	b				g	h
	C	b	c	d	e	f	i
	KC.03	b	*	*	e		
	.02	b	c	*			h
	.01	b	c		e		h
	.04						h i

Die Muster sind in der Aufstellung innerhalb jeder Gruppe nach den vorhandenen Banden ohne Rücksicht auf ihre Qualität lexikografisch ("Position mit Bande" vor "Position ohne Bande") angeordnet. Die Kreuzungen sind ebenfalls lexikografisch gereiht (nach den beteiligten Eltern) und von 1 bis 12 durchnummeriert.

32,11.1 . Die Muster der Eltern

Für die sechs Eltern (im folgenden abgekürzt "P." für "Parentes") wurden insgesamt 5 verschiedene Muster festgestellt: die Phänotypen von C und D sind identisch, die übrigen Eltern sind von ihnen und voneinander unterscheidbar (Uebersicht 10). Dieser Befund deckt sich mit dem des Stärkegel-Vorversuchs, sofern man bei diesem ebenfalls den frontnäheren Bereich ausschließt (Uebersicht 7).

Während jedoch im Vorversuch C und D mit einem Muster aus 3 Banden etwa in der Mitte liegen, zeigen sie im Hauptversuch das bandenreichste Muster aus 7 Banden. Der Elter A, dessen Extrakte im Vorversuch mit 5 Banden an erster Stelle steht, hat im Hauptversuch als einziges Individuum ein Muster, das nur aus der Bande b gebildet wird. Diese ist gleichzeitig die häufigste Bande bei den P. Aehnliche Umstellungen ergeben sich auch für die anderen Eltern.

In beiden Versuchen wurden die Versuchsvarianten mit Ausnahme der Elektrophoresetechnik konstant gehalten. Insbesondere wurden die Nadelextrakte, die in Stärkegeltechnik getrennt worden waren, zur selben Jahreszeit gewonnen wie die, die in PAA-Technik untersucht wurden. Somit sind verschiedene Trenneigenschaften der beiden Techniken für die Isoperoxidasen aus Douglasien-Nadelextrakten anzunehmen.

32,11.2 Die Muster der Nachkommen im Vergleich mit denen der Eltern

Wie bei P., so wurde auch in der gesamten Nachkommenschaft ("F1" abgekürzt) kein "Muster mit null Banden" festgestellt. Diejenigen Individuen, in deren Zymogrammen sich Peroxidasebanden nicht nachweisen ließen, wurden aus der Betrachtung ausgeschlossen, da sich dies ausnahmslos zwingend auf methodische Ursachen zurückführen ließ. (Daraus ergibt sich der Unterschied zwischen dem Material, das für die Nadelextrakte, und dem, das für den Gewebekulturteil ausgewertet wird, vgl. Uebersicht 2.)

Auch in F1 kamen Muster mit mehr als 7 Banden im Bereich a bis i nicht vor. Am häufigsten traten Muster mit einer mittleren Anzahl an Banden auf, wobei die Konstellation bei 1 bis 6 Banden verschieden sein konnte. Muster mit 7 Banden hatten immer die Konstellation wie diejenigen der Eltern C und D (Uebersicht 10 und 11).

Mit Ausnahme der Bande a, die nur beim Elter B gefunden wurde, kamen alle Banden sowohl in P. wie auch in F1 vor.

Die Bande b steht hinsichtlich ihrer Häufigkeit auch bei F1 an der Spitze: in nur 5 Phänotypen wurde sie als sicher nicht vorhanden eingestuft. Bande c ist insgesamt etwa gleich häufig: bei 4 der F1 fehlt sie sicher, im gesamten Material fehlt sie sechsmal, also einmal mehr als b.

Die ebenfalls in beiden Gruppen sehr häufige Bande h fehlt bei 8 der F1. Als "besonders schwach" oder "zweifelhaft" wurde sie in keinem einzigen Fall angesehen, worin sie sich von allen übrigen Banden (mit Ausnahme von a) unterscheidet. Sie bildet als zweiter Fall eines Zymogramms mit nur einer Bande im berücksichtigten Bereich das charakteristische Muster des Nachkommen DC.02 (Uebersicht 11).

32,12. Genetische Interpretation der Muster

Betrachtet man die Bandenmuster der jeweils gekreuzten P. und der jeweils zugehörigen F1 vergleichend, dann ergeben sich bereits ohne Einzelvergleich der verschiedenen Banden konkrete Anhaltspunkte dafür, daß eine Interpretation der Muster im Zusammenhang mit genetischen Ursachen in Frage kommt:

- 1) Die Aufspaltung in F1: trotz der annähernd gleichen Häufigkeiten in der gesamten F1 werden die Banden der F1 der einzelnen Kreuzungen nicht in denselben Kombinationen beobachtet, wie sie in den beiden Eltern vorliegen, sondern sie erscheinen oder fehlen in den einzelnen Nachkommen mehr oder weniger unabhängig voneinander. Dadurch spaltet die F1 jeder Kreuzung in jedem der 18 beobachteten phänotypischen Kriterien (9 Positionen, jeweils mit oder ohne Bande) unterschiedlich auf.
- 2) "Verdeckte"Eigenschaften: Die Banden d bis g erscheinen (mehr oder weniger unabhängig voneinander) in der F1 verschiedener Kreuzungen, deren beide P. die Banden nicht haben:
vgl. Uebersicht 11: Bande f in Kreuzung Nr. 1)
 g " 5) und 8)
 d und e " 11)
- 3) Qualitative Merkmalsalternativen: In allen 9 Positionen treten als Alternativen die Eigenschaften "Position mit Bande" und "Position ohne Bande" auf; insofern ist die 2. Beobachtung ein Spezialfall der ersten. Außerdem fällt jedoch auf, daß von den starken Banden auch die positiven Merkmale "Position e mit Bande" und "Position g mit Bande" nur alternativ vorkommen, und beide wiederum alternativ zu dem Merkmal "beide Positionen (e sowie g) ohne Bande".

Diese drei Beobachtungen deuten auf die Möglichkeit hin, daß die Banden im Sinne der Mendelgesetze einer einfachen genetischen Kontrolle durch allelische Gene unterliegen können.

Es ist deshalb zu zeigen, ob die erhaltenen Aufspaltungszahlen sich in diesem Sinne einer genetischen Hypothese anpassen oder nicht. Die Prüfung der Anpassung wird zuerst an den Bandenpositionen e und g dargestellt.

32,12.1 Die Bandenpositionen e und g

Die Beschreibung der Ergebnisse erfolgt am übersichtlichsten in der abgekürzten Schreibweise, die im folgenden an einigen Beispielen erklärt wird:

Die 3 Merkmale "Position e mit Bande", "Position g mit Bande" und "Positionen e und g ohne Bande" werden mit den Symbolen e, g und $\emptyset$ dargestellt. Der experimentell ermittelte Phänotyp wird durch das einfache, eingeklammerte Symbol für das entsprechende Merkmal dargestellt, z.B. bedeutet "C(e)", daß für den Elter C die Bande in Position e als charakteristisch angesehen wird.

Indem die 3 Merkmale phänotypisch nur alternativ auftreten, verhalten sie sich so als wären sie von drei allelischen Komponenten eines Genortes gesteuert, welche untereinander dominant-rezessiven Bedingungen unterworfen sind. Jedes Individuum enthält an dem betreffenden hypothetischen Genlocus zwei von diesen 3 hypothetischen allelischen Komponenten. Die drei Allele werden nach dem Merkmal bezeichnet, das sie im homozygoten oder dominanten Fall auslösen, also ebenfalls e, g und $\emptyset$. Die abgekürzte Schreibweise für einen Genotyp enthält in der Klammer die zwei dieser Symbole, die in dem betreffenden Genom als präsent angenommen werden. Z.B. bedeutet "C(eg)", daß für den Elter C Heterozygotie aus den beiden für die Merkmale e und g "codierenden Allele" angenommen wird, oder "EB.05($\emptyset\emptyset$)" bedeutet, daß beide Allele des hypothetischen Genortes die Auslöser des Merkmals "Positionen e und g ohne Bande" sind. Für die hypothetischen Beziehungen zwischen den allelischen Komponenten werden die allgemein gebräuchlichen Abkürzungen ">" (das Größerzeichen) für "ist dominant gegenüber" und "<" (das Kleinerzeichen) für "ist rezessiv gegenüber" gebraucht.

Die grundsätzlich denkbaren Fälle der gegenseitigen Dominanzbeziehungen zwischen den drei Allelen sind in Uebersicht 12 dargestellt:

Uebersicht 12:

"Dominanzhypothesen": Darstellung der 8 logisch möglichen Fälle der Dominanzbeziehungen zwischen den drei hypothetischen allelischen Komponenten e , g und $\emptyset$

Fall 1	Fall 3	Fall 5	Fall 7
$e > g$	$e > g$	$e < g$	$e < g$
$e > \emptyset$	$e < \emptyset$	$e > \emptyset$	$e < \emptyset$
$g > \emptyset$	$g > \emptyset$	$g > \emptyset$	$g > \emptyset$
Fall 2	Fall 4	Fall 6	Fall 8
$e > g$	$e > g$	$e < g$	$e < g$
$e > \emptyset$	$e < \emptyset$	$e > \emptyset$	$e < \emptyset$
$g < \emptyset$	$g < \emptyset$	$g < \emptyset$	$g < \emptyset$

Jeder dieser 8 Fälle ("Dominanzhypothesen") erlaubt für jeden experimentell gefundenen Phänotyp eine beschränkte Anzahl an genetischen Hypothesen ("Varianten"), z.B.:

- 1) Wenn $C(e)$ und Dominanzhypothese Fall 2
dann: genetische Varianten $C(ee)$ oder (eg) oder $(e\emptyset)$
- 2) Wenn $C(e)$ und Dominanzhypothese Fall 3
dann: genetische Varianten $C(ee)$ oder (eg)

Daraus können für jede Kreuzung

- 1) eine Reihe denkbarer Varianten der Elterngenotypen
- 2) eine Reihe denkbarer Genotypenaufspaltungen in der F_1
- 3) eine Reihe denkbarer Phänotypenaufspaltungen in der F_1

als Erwartungswerte konstruiert werden, mit denen das experimentelle Material zu vergleichen ist.

Die gesamte Prüfung des Materials verläuft über 6 Stufen, die im folgenden am Beispiel des positiven Ergebnisses für e , g und $\emptyset$ dargestellt werden.

Stufe 1: Den 6 Eltern werden aufgrund ihres Phänotyps die bei Gültigkeit der zu analysierenden Dominanzhypothese denkbaren Genotypen zugeordnet.

Z.B.: Fall 3 (Uebersicht 12) $e > g$

$$e < \emptyset$$

$$g > \emptyset$$

erlaubt für die P. folgende Varianten (mit Indexnummer) der genetischen Konstitution:

Phänotyp	e	e	$\emptyset$	g	g	$\emptyset$
Genotyp	ee	eg	e $\emptyset$	gg	g $\emptyset$	$\emptyset\emptyset$
			A ₁			A ₂
			B ₁			B ₂
	C ₁	C ₂				
	D ₁	D ₂				
			E ₁			E ₂
				K ₁	K ₂	

Stufe 2: Es wird festgestellt, welche Phänotypen aus den im Kreuzungsschema vorkommenden Kreuzungen aufgrund der obigen Hypothese in F1 auftreten können, indem jede der durchgeführten Kreuzungen mit einem Mendelschema nach der Hypothese durchgespielt wird.

z.B.: Kreuzung AC₂ mit Varianten 1 bzw. 2 von A und Variante 2 von C.

		A ₁	
		e	$\emptyset$
C ₂	e	ee	e $\emptyset$
	g	eg	g $\emptyset$

		A ₂	
		$\emptyset$	$\emptyset$
C ₂	e	e $\emptyset$	e $\emptyset$
	g	g $\emptyset$	g $\emptyset$

Daraus abzuleitende theoretische Phänotypenverhältnisse in der F1:

$$A_1C_2 (e : g : \emptyset) = (2 : 1 : 1)$$

$$A_2C_2 (e : g : \emptyset) = (0 : 1 : 1)$$

Stufe 3: Das experimentelle Ergebnis wird mit der Phänotypen-
hypothese verglichen,

z.B.

Experiment: $AC (e : g : \phi) = (8 : 0 : 2)$

Hypothese: $A_1C_2 (e : g : \phi) = (2 : 1 : 1)$

$A_2C_2 (e : g : \phi) = (0 : 1 : 1)$

Der Vergleich zeigt, daß die hypothetische Alternative A_2C_2 von vornherein ausgeschlossen werden muß, denn diese Hypothese läßt Phänotypen "mit e" überhaupt nicht zu, während im Experiment sogar die überwiegende Mehrzahl der F1 $AC(e)$ ist.

Stufe 4: Wurde im Experiment für eine Hypothese kein unmöglicher Fall in F1 beobachtet, dann wurde die Hypothese mit einem Chiquadrat-Anpassungstest gegen das experimentelle Ergebnis getestet (Ansatz des Tests: im Abschnitt 73,1).

Der verwendete χ^2 -Test ist den Verhältnissen des Versuchs mit den sehr kleinen Spaltungszahlen angepaßt. Da er den Vergleich mit nur 2 Merkmalsklassen erlaubt, wurde immer je eines der 3 Merkmale mit den beiden übrigen verglichen, z.B. die experimentelle/theoretische Zahl für e mit der Summe der experimentellen/theoretischen Zahlen für $(g+\phi)$; abgekürzte Schreibweise: "e:". Für jede einzelne Kreuzung ergaben sich danach 3 Werte für $\hat{\alpha}$ (gelistet unter "e:", "g:" und " ϕ :"). Unterschritt einer dieser 3 Werte die 5%-Grenze, so wurde die Hypothese für die betreffende Kreuzung abgelehnt.

Stufe 5: Zum Test des Materials im Ganzen wurden die einzelnen χ^2 -Werte, die sich jeweils für e:, g: und ϕ : errechneten, über alle Kreuzungen aufaddiert und aus dieser Summe der jeweilige $\hat{\alpha}$ -Wert mit 1 Freiheitsgrad je einbezogener Kreuzung berechnet.

Alle 8 Dominanzhypothesen ($\hat{U}$ 12) wurden für das gesamte Material mit allen aus ihnen folgenden Varianten der hypothetischen Eltern genotypen nach diesem Verfahren durchgetestet. Mit Ausnahme der Dominanzhypothese Fall 3 widersprechen die F1-Phänotypen aus mehr als einer Kreuzung allen aus den Dominanzhypothesen theoretisch zu fordernden Aufspaltungsvarianten

bereits auf Teststufe 3, also qualitativ. Die Dominanzhypothese Fall 3 wird aus 11 Kreuzungen bestätigt. Nur die Nachkommen der Kreuzung DC widersprechen zunächst der durch das gesamte Kreuzungssystem gestützten Hypothese. Schließt man deshalb D vorläufig aus der Darstellung aus, dann zwingt das gesamte übrige Material aufgrund der Phänotypen zur Annahme folgender P.-Genotypen (beibehaltene Varianten aus dem Beispiel zu Stufe 1 nach Ausschluß der durch den Test widerlegten):

<u>ee</u>	<u>eg</u>	<u>eϕ</u>	<u>g$\bar{g}$</u>	<u>gϕ</u>	<u>$\phi\phi$</u>
		A			
		B			
	C				
		E			
				K	

In Uebersicht 13 sind die experimentellen (absoluten) und die theoretischen (relativen) Aufspaltungszahlen bei Dominanzhypothese Fall 3 als Grundlage und die $\hat{\alpha}$ -Werte des Chiquadrat-Testes (als Prozentwerte) auf den Stufen 4 bis 6 als Ergebnis unter Auslassung der Kreuzungen mit Elter D (Nr. 7 und 8) zusammengestellt.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von "(100)" ist dort angegeben, wo wegen eines Erwartungswertes von 0 Fällen die Chiquadrat-Berechnung undurchführbar ist, das Ergebnis jedoch mit der Erwartung voll übereinstimmt, z.B.: Kreuzung 9,EB, hat bei einer Erwartungshypothese von $g : (e + \phi) = (0 : 4)$ eine experimentelle Aufspaltung von $(0 : 10)$. Irrtumswahrscheinlichkeiten von 100% (nicht eingeklammert) sind aufgrund von χ^2 errechnete Werte.

Gegen die nach Teststufe 3 verbliebenen Möglichkeiten findet auf den höheren Teststufen keine Entscheidung durch den Vergleich der Aufspaltungszahlen statt: auf der gegebenen Basis sind experimentelle und hypothetische Spaltungszahlen nicht

signifikant verschieden. Es liegt deshalb nahe, die Hypothese aus den zehn einander bestätigenden Kreuzungsergebnissen aufrechtzuerhalten. Die Phänotypen der F1 aus den Kreuzungen mit Elter D spalten im Experiment in folgender Weise auf:

	e	g	ϕ
DB	2		2
DC		4	6

Berücksichtigt man den Phänotyp von D zunächst nicht, dann kommt auf der Basis der Hypothese (Ue15) die Aufspaltung der F1 von DB und DC auf Teststufe 3 nur in Frage, wenn man für $D(e\phi)$ oder $(g\phi)$ unterstellt. Die Uebersicht 14 stellt die Genotypen- und Phänotypenaufspaltungen zusammen, die sich in den F1 aus der Kreuzung von B bzw. C mit allen 6 denkbaren Kombinationen der 3 allelen Komponenten e, g und ϕ theoretisch ergeben würden. Durch Einrahmen besonders hervorgehoben sind im Schema diejenigen F1-Gruppen, welche die Phänotypen-kombinationen zulassen, die in F1 der Kreuzungen mit D gefunden werden.

Trotz des festgestellten Phänotyps $D(e)$ ergibt sich daraus ohne weiteres eine Möglichkeit, die durch 10 zusammenhängende Kreuzungen gestützte Hypothese aufrecht zu erhalten: wenn man nämlich annimmt, daß der Baum (Klon) nicht aus einem einzigen Genotyp besteht, sondern daß er ursprünglich bezüglich des beobachteten hypothetischen Genortes heterozygot gewesen, dann aber nach einem mitotischen (somatischen) Rekombinationsvorgang gleichsam als "Chimäre" aus 3 verschiedenen Genotypen weitergewachsen ist, läßt sich die Aufspaltung in F1 erklären.

Konkret stellt sich der unterstellte Vorgang so dar: Aus einer Zygote $D(e\phi)$ - mit dem Phänotyp $D(\phi)$ - entstanden nach einer unbekannten Anzahl von Mitosen durch mitotisches Crossing-over, also durch Austausch der homologen Chromosomenstücke mit den betreffenden Allelen, beispielsweise in den beiden Tochterzellen einer beliebigen somatischen Zelle, die beiden Genotypen $D(ee)$ und $D(\phi\phi)$.

Damit fanden sich am Baum (Klon) D drei verschiedene Genotypen, (ee) , $(e\phi)$ und $(\phi\phi)$, die mehr oder weniger gleich-

Uebersicht 13: Prüfung der genetischen Hypothese auf den Stufen 4 bis 5

Kreuzung Nr.		Aufspaltung der Phänotypen						$\hat{\alpha}$ (% , Stufe 4)		
		experimentell			theoretisch					
		e	g	ϕ	e	g	ϕ	e:	g:	ϕ :
AB	1			4	1		3	56	(100)	56
AC	2	8		2	2	1	1	11	14	100
	*	7		3				14	14	100
BC	3	3		1	2	1	1	62	56	56
BE	4			10	1		3	14	(100)	14
CB	5	3	2	5	2	1	1	34	100	14
CE	6	4		5	2	1	1	100	18	8
EB	9			10	1		3	14	(100)	14
EC	10	3		2	2	1	1	100	44	80
KB	11	1	4	3	1	1	2	68	22	72
KC	12	2		2	1	2	1	56	13	56
$\hat{\alpha}$ (%; Stufe 5)								56	34	39

Uebersicht 14: Test für die Kreuzungen mit D: Darstellung der Varianten der Genotypen- und Phänotypen-aufspaltung

Phänotyp:	e	e	ϕ	g	g	ϕ	} zum Test für D
Genotyp:	e e	e g	e ϕ	g g	g ϕ	ϕ ϕ	
B { ϕ	e ϕ e ϕ	e ϕ g ϕ	e ϕ $\phi\phi$	g ϕ g ϕ	g ϕ $\phi\phi$	$\phi\phi$ $\phi\phi$	Genotypen- Aufspaltung in F1
C { e	ee ee	ee eg	ee e ϕ	eg eg	eg e ϕ	e ϕ e ϕ	
g	eg eg	eg g ϕ	eg $\phi\phi$	gg gg	gg g ϕ	g ϕ g ϕ	
B { ϕ	$\phi\phi$ $\phi\phi$	$\phi\phi$ g	$\phi\phi$ $\phi\phi$	g g	g ϕ	$\phi\phi$ $\phi\phi$	Phänotypen- Aufspaltung in F1
C { e	e e	e e	e ϕ	e e	e ϕ	$\phi\phi$ $\phi\phi$	
g	e e	e g	e g	g g	g g	g g	

stark weiterwuchsen. Wenn dann Teile des Baumes (Klones) mit dem Genotyp $D(ee)$ zur Extraktion gelangten, zeigte das Individuum D den Phänotyp $D(e)$. Trotzdem können Teile mit den beiden anderen Genotypen zur Blüte gekommen und also bei der Kreuzung verwendet worden sein, so daß das "Allel $\emptyset$ " aus D in der F_1 auftaucht.

Erwartungswerte für Aufspaltungszahlen können wegen der unbekannten Anteile der 3 Genotypen an den gelenkt bestäubten Blüten nicht exakt angesetzt werden. Die Uebersicht 15 gibt einige Fälle der theoretischen Aufspaltungen in den F_1 der Kreuzungen mit D , wie sie sich bei den verschiedenen unterstellten Genotypen für D darstellen würden. In der Beurteilung auf Teststufe 3 werden dort mit einem Minuszeichen diejenigen Hypothesen markiert, für die die Phänotypenaufspaltung in F_1 qualitativ unmöglich ist. Daneben ist der im Anhang (Abschnitt 73,1) erläuterte quantitative Chiquadrat-Anpassungstest angeführt.

Danach erscheint das Ergebnis der Kreuzung DB gleichermaßen möglich, wenn $D(ee)$, wenn $D(e\emptyset)$ oder wenn $D(ee=e\emptyset=\emptyset\emptyset)$, d.h., wenn die drei Genotypen der "Chimäre" D zu gleichen Teilen an der Produktion der Nachkommenschaft beteiligt sind. Auch $D(e\emptyset=\emptyset\emptyset)$ kommt in Frage, da wegen der geringen Nachkommenzahl der etwas schlechteren Anpassung kaum Gewicht beigegeben werden kann. $D(eg)$ scheidet nur wegen der Aufspaltung der F_1 von DC aus. Aus dem Ergebnis der Aufspaltung der F_1 aus DC wäre in dieser Kreuzung mit $D(\emptyset\emptyset)$ oder $D(e\emptyset=\emptyset\emptyset)$ zu rechnen. Für die qualitativ möglichen Aufspaltungen aus anderen Hypothesen zu D werden zu kleine $\hat{\alpha}$ -Werte errechnet.

Somit kann die zwingende weil auf der Basis des vorliegenden Materials einfachste genetische Hypothese in die folgenden Punkte zusammengefaßt werden:

1. Das Erscheinen der Banden e und g wird von einem Genort gesteuert. Die Bande e ist also eine "Slow-Bande", g eine "Fast-Bande".

Übersicht 15: Unterlage zum Test der Aufspaltung der F1 in den Kreuzungen mit Elter D

Kreuzung	hypothet. Genotyp von D	theoret. Aufspaltung e g	auf Stufe 3	$\hat{\alpha}$ (%) e:	Stufe 4) g:	ϕ :
DB Nr. 7	ee	2	2	+	62 (100)	62
	eg	2	1	+	62	56
	e ϕ	1	3	+	56 (100)	56
	$\phi\phi$		4	-		
	e ϕ = $\phi\phi$	1	7	+	13 (100)	13
	ee=e ϕ = $\phi\phi$	1	3	+	56 (100)	56
DC Nr. 8	ee	4		-		
	eg	3	1	-		
	e ϕ	2	1	+	0.4	46
	$\phi\phi$		2	+	(100)	75
	e ϕ = $\phi\phi$	2	3	+	14	87
	ee=e ϕ = $\phi\phi$	2	1	+	0.4	46
						2.8
						75
						25
						2.8

2. Diese Steuerung erfolgt durch die 3 allelischen Komponenten e ("fast"), g ("slow") und $\emptyset$ (eventuell "silent").
3. Zwischen diesen 3 allelischen Komponenten bestehen dominant-rezessive Verhältnisse.
4. $e > g$, $e < \emptyset$, $g > \emptyset$
5. $A(e\emptyset)$, $B(e\emptyset)$, $C(eg)$, $E(e\emptyset)$, $K(g\emptyset)$.
D ist eine "Chimäre" aus (ee) , $(e\emptyset)$ und $(\emptyset\emptyset)$.
6. Alle anderen Formulierungen einer einfachen genetischen Hypothese widersprechen den experimentellen Ergebnissen.

32,12.2 Die übrigen Positionen mit starken Banden

Anders als für die Banden e und g werden für die noch verbleibenden starken Banden b und h keine anderen Alternativen als das Fehlen der betreffenden Bande gefunden.

Beziehungen zwischen Auftreten von b und Ausbleiben von h und umgekehrt sind nicht erkennbar. Es gibt Phänotypen mit beiden Banden zusammen und mit jeder von beiden ohne die andere; letztere sind selten, entsprechend den hohen Häufigkeiten der beiden Banden. Das Fehlen von Genotypen die weder b noch h haben, kann (aus dem Material unwidersprochen) auf die geringe Häufigkeit von Phänotypen ohne b und solchen ohne h zurückgeführt werden. Es gibt keine Veranlassung anzunehmen, daß andere Banden oder Kombinationen mit dem einzelnen oder gemeinsamen Auftreten der beiden Banden b und h in Zusammenhang stehen.

Es kann deshalb die Hypothese errichtet werden, daß das Erscheinen der Banden b und h von je einem Genort mit jeweils den beiden Allelen, "Position mit Bande" und "Silent" gesteuert werden. Diese Hypothese ist im folgenden anhand der theoretischen und der experimentellen Spaltungszahlen zu testen.

32,12.21 Die Hypothese zur Position b

Der Test der Hypothese erfolgt hier grundsätzlich gleich wie bei den Positionen e und g.

Für die Dominanzhypothese kommen hier nur 2 Möglichkeiten in Frage:

Fall 1 $b > \emptyset$

Fall 2 $b < \emptyset$

Der Fall 2 würde erfordern, daß alle Eltern, da sie ja Phänotyp (b) haben, genetisch (bb) veranlagt sein müßten. Das Fehlen (zweifelhafte Fehlen) der Bande b in 5 (8) Individuen aus 3 (5) verschiedenen Kreuzungen (siehe nachfolgende Aufstellung) wäre dann nicht zu erklären, weil aus der Kreuzung (bb) x (bb) nur (bb) Nachkommen mit Phänotyp (b) zu erwarten sind.

Diese Dominanz-Hypothese muß somit abgelehnt werden.

Nachkommen ohne sichere Bande b

ohne (b)	(b') fraglich	(b*) schwach
CB.07	CB.06	CB.10
DC.01	CE.03	
.02	DB.04	
.08		
KC.04		

Die Dominanz-Hypothese $b > \emptyset$ führt zwangsläufig zu der Annahme aus den Elternphänotypen, daß für die Eltern ausnahmslos die beiden genetischen Varianten (bb) und (b $\emptyset$) denkbar sind. Testet man die Nachkommenschaften nach den Stufen 1 bis 4 durch, ergibt sich für die Elterngenotypen bezüglich der Bande b folgende Hypothese mit je 2 Varianten für A und E:

bb	b $\emptyset$
A ₁	A ₂
	B
	C
	D
E ₁	E ₂
	K

Herleitung: Theoretisch möglich sind unter der Voraussetzung der Hypothese die folgenden beiden Aufspaltungsvarianten der Genotypen und Phänotypen:

	Genotypen				Phänotypen
	b	ϕ			
b	bb	$b\phi$	}	(1)	4 : 0
b	bb	$b\phi$		}	3 : 1
ϕ	$b\phi$	$\phi\phi$			

In F1 einer Kreuzung kann deshalb der Phänotyp (ϕ) nur erscheinen, wenn beide p.($b\phi$) . F1(ϕ) kommt in folgenden Kreuzungen sicher vor: CB, DC und KC.

Das bedeutet, daß die Eltern B, C, D und K sicher ($b\phi$) sein müssen. Die Uebersicht 16 listet die experimentellen und theoretischen Phänotypenaufspaltungen für alle Varianten auf, wobei die mit Apostroph bezeichneten Zeilen die Aufspaltung nach Streichung der fraglichen, die mit Stern bezeichnete Zeile nach Streichung auch der schwachen Fälle von (b) angeben.

Eine Entscheidung für eine der beiden denkbaren Varianten von A und E fällt auch auf Stufe 4 nicht. Die Teststufe 5* (Uebersicht 17) zeigt auf, daß insbesondere die F1 aus Kreuzungen mit dem Elter E, aber auch aus diesen mit A deutlich schlechter an die Hypothese ($b : \phi$) = (3 : 1) angepaßt sind als die jeweils übrigen Kreuzungen. Eine Signifikanz wird jedoch nicht erreicht, so daß weiterhin beide Varianten für A und E angenommen werden können. Man kann der Variante 1 den Vorzug geben, zumal die Anpassung der F1 aus den als ($b\phi$) angenommenen P. sich nach Eliminieren der 6 Kreuzungen, in denen ein Elter A oder E ist, so beträchtlich verbessert. Dann muß auf jeden Fall CE.03 (b) und damit (bb) oder ($b\phi$) angenommen werden; die als "fraglich" diagnostizierte Bande (b') wäre in diesem Falle als (b) anzuerkennen. Für CB.06 und DB.04 wäre auf derselben Grundlage die Version ($\phi\phi$) vorzuziehen, für CB.10 kann eine Entscheidung für eine der 3 Varianten (bb), ($\phi\phi$) oder ($b\phi$) selbst auf dieser Grundlage nicht getroffen werden.

Uebersicht 16: Prüfung der genetischen Hypothese zu Bande b auf Stufe 4

Kreuzung Nr.	Aufspaltung der Phänotypen		$\hat{\alpha}$ (%, Stufe 4)
	experimentell (b : ϕ)	theoretisch (b : ϕ)	
A ₁ B	1	4 : 0	(100)
A ₂ B		3 : 1	57
A ₁ C	2	10 : 0	(100)
A ₂ C		3 : 1	15
BC	3	4 : 0	57
BE ₁	4	10 : 0	(100)
BE ₂		3 : 1	15
CB	5	9 : 1	47
'		8 : 2	100
*		7 : 3	100
CE ₁	6	9 : 1	(100)
'		8 : 1	
CE ₂		9 : 0	18
'		8 : 1	57
DB	7	4 : 0	57
'		3 : 1	57
DC	8	7 : 3	100
E ₁ B	9	10 : 0	(100)
E ₂ B		3 : 1	15
E ₁ C	10	5 : 0	(100)
E ₂ C		3 : 1	44
KB	11	8 : 0	22
KC	12	3 : 1	57

Uebersicht 17: Prüfung der genetischen Hypothese zu (b; $\emptyset$) auf Stufe 5*

Kreuzungen	$\hat{a}$ (% , Stufe 5*)	
	max (b)	ohne ' und *
alle	41	58
mit A	29	(29)
alle übrigen	44	64
mit E	14	25
alle übrigen	70	76
mit A, mit E	14	25
alle übrigen	80	87

Zusammenfassend kann die genetische Hypothese für (b) in folgender Formulierung gegeben werden:

- 1) Das Erscheinen der Bande b wird genetisch gesteuert (vgl. Abschn. 32,12.)
- 2) Die Steuerung erfolgt durch die beiden allelischen Komponenten b (Bande) und $\emptyset$ (evtl. "silent") (vgl. Abschn. 32,12.2)
- 3) Zwischen den beiden allelischen Komponenten bestehen dominant-rezessive Verhältnisse
- 4) $b > \emptyset$
- 5) B(b $\emptyset$), C(b $\emptyset$), D(b $\emptyset$), K(b $\emptyset$)
A und E: (bb) oder, weniger gut (b $\emptyset$)
- 6) Zu den unsicheren Banden in der Nachkommenschaft wird in folgender Weise entschieden:
CB.06 ($\emptyset$) wegen CB.06 ($\emptyset\emptyset$)
CB.10 (b oder $\emptyset$)
wegen CB.10 (bb oder b $\emptyset$ oder $\emptyset\emptyset$)
CE.03 (b) wegen CE.03 (bb oder b $\emptyset$)
DB.04 ($\emptyset$) wegen DB.04 ($\emptyset\emptyset$)
- 7) Diese Hypothese unter Einschluß der genannten Varianten ist die einzige einfache genetische Interpretation, die den experimentellen Ergebnissen nicht widerspricht.

32,12.22 Die Hypothese zur Position h

Die Ergebnisse liegen hier grundsätzlich parallel wie bei der Position b.

Dominanzhypothese: Fall 1 $h > \emptyset$
 Fall 2 $h < \emptyset$

Bei Gültigkeit des Falles 2 der Dominanzhypothese würden die Elternphänotypen zur Annahme der folgenden genetischen Varianten zwingen:

Phänotyp	h	$\emptyset$	$\emptyset$
Genotyp	hh	$h\emptyset$	$\emptyset\emptyset$
		A_1	A_2
	B		
	C		
	D		
	E		
	K		

Aus diesen Varianten ergeben sich folgende Phänotypen-Aufspaltungsfälle:

	Genotypen			Phänotypen
	h	h		
h	hh	hh	} 1)	4 : 0
h	hh	hh		
$\emptyset$	$h\emptyset$	$h\emptyset$	} 2)	2 : 2
$\emptyset$	$h\emptyset$	$h\emptyset$		
			} 3)	0 : 4

Erwartung und theoretische Aufspaltungen für die Kreuzungen mit A_1 und A_2 sowie für die Kreuzung KC zeigt folgende Liste:

Phänotypenaufspaltung (h : 0)

	experimentell	theoretisch
A_1B	4 : $\emptyset$	<u>2 : 2</u>
A_2B		0 : 4
A_1C	4 : 6	<u>2 : 2</u>
A_2C		0 : 4
KC	3 : 1	4 : 0

Die Variante A_2 wäre damit qualitativ ausgeschlossen, A_1 ist möglich. Im obigen Aufspaltungsschema ist abzulesen, daß die Kreuzung KC dem Aufspaltungsfall 1 entspricht. Ein Phänotyp ohne h darf danach in F1 aus KC nicht vorkommen. Damit ist die Dominanzhypothese $h < \emptyset$ abgelehnt.

Der Fall 1 der Dominanzhypothese, $h > \emptyset$, ergibt folgende Interpretationsmöglichkeit aus den P.-Phänotypen:

Varianten der Elterngenotypen:

Phänotyp	h	h	$\emptyset$
Genotyp	hh	$h\emptyset$	$\emptyset\emptyset$

A

B1	B2
C1	C2
D1	D2
E1	E2
K1	K2

In Kreuzungen mit wenigstens einem P.(hh), in denen also mindestens für einen der beiden P. die Variante 1 angenommen wird, kann in F1 kein Phänotyp ($\emptyset$) vorkommen, gleichgültig, welche der beiden übrigen Genotypen für den anderen P. unterstellt wird. Da A($\emptyset\emptyset$) wegen ($\emptyset$) sein muß, und in der Kreuzung AC insgesamt 6 Nachkommen ($\emptyset$) haben, kommt für C nur ($h\emptyset$) in Frage. Wegen K(h) kann für K nicht ($\emptyset\emptyset$) angenommen werden, wegen KC.03($\emptyset$) bleibt für K deshalb ebenfalls ($h\emptyset$) als einzige denkbare Variante übrig:

Phänotyp	h	h	$\emptyset$
Genotyp	hh	$h\emptyset$	$\emptyset\emptyset$

A

B1	B2
	C
D1	D2
E1	E2
	K

Der Befund, daß von den 70 Nachkommen der Kreuzungen Nr. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 und 11 zwischen C ($h\phi$) bzw. K ($h\phi$) und den bisher nicht auf eine Variante festgelegten Eltern kein einziger F1(ϕ) zeigt, legt die Vermutung nahe, daß doch nicht sowohl B, als auch D und E genetisch ($h\phi$) sein dürften. Eine Signifikanz im Sinne dieser Vermutung errechnet sich allerdings nicht auf Teststufe 4, vgl. Uebersicht 18.

Uebersicht 18:

Prüfung der genetischen Hypothese zu Bande h auf Stufe 4

Kreuzung	Nr.	Varianten- indices P1 / P2	Phänotypenaufspaltung (h : ϕ)		$\hat{\alpha}$ (%, Stufe 4)
			experimentell	theoretisch	
AB	1	./1	4 : 0	4 : 0	(100)
		./2		2 : 2	13
AC	2	./.	4 : 6	2 : 2	75
BC	3	1/.	4 : 0	4 : 0	(100)
		2/.		3 : 1	56
BE	4	2/2	10 : 0	3 : 1	14
		übrige		4 : 0	(100)
CB	5	./1	10 : 0	4 : 0	(100)
		./2		3 : 1	14
CE	6	./1	9 : 0	4 : 0	(100)
		./2		3 : 1	17
DB	7	2/2	4 : 0	3 : 1	56
		übrige		4 : 0	(100)
DC	8	1/.	10 : 0	4 : 0	(100)
		2/.		3 : 1	14
EB	9	2/2	10 : 0	3 : 1	14
		übrige		4 : 0	(100)
EC	10	1/.	5 : 0	4 : 0	(100)
		2/.		3 : 1	44
KB	11	./1	8 : 0	4 : 0	(100)
		./2		3 : 1	22
KC	12	./.	3 : 1	3 : 1	56

Für (B und D und E) ($h\phi$) errechnet sich auf Stufe 5 ein Wert von $\hat{\alpha} = 9.5\%$, während alle F1 aus Kreuzungen mit ihnen als einem oder beiden P. mit der Hypothese (hh) eine nicht berechenbare aber vollkommene Uebereinstimmung bringen.

Um eine Vorstellung zu erhalten, für welchen der 3 Eltern am ehesten (hh) angenommen werden sollte, wird der Test auf einer 6. Stufe in folgender Weise unter Verlust von Freiheitsgraden verschärft: es werden unter der Voraussetzung verschiedener Hypothesen für die 3 Eltern alle Nachkommen aus hypothetisch genetisch gleichartigen Kreuzungen zu einer einzigen Stichprobe zusammengefaßt und für diese ein $\hat{\alpha}$ (% , Stufe 6) berechnet:

Variantenkombinationen für die Eltern B, D und E

	1	2	3	4	5	6	7	8
B	hh	hh	hh	h $\emptyset$	hh	h $\emptyset$	h $\emptyset$	h $\emptyset$
D	hh	hh	h $\emptyset$	hh	h $\emptyset$	hh	h $\emptyset$	h $\emptyset$
E	hh	h $\emptyset$	hh	hh	h $\emptyset$	h $\emptyset$	hh	h $\emptyset$
$\hat{\alpha}$ (% , Stufe 6)	(100)	10	22	2.4	1.6	$6 \cdot 10^{-3}$	0.2	$5 \cdot 10^{-4}$
möglich	+	+	+					
unmöglich				-	-	-	-	-

Auf der Basis der angegebenen Voraussetzungen läßt sich die genetische Hypothese bezüglich des Merkmals h zusammenfassen wie folgt:

- 1) Das Erscheinen der Bande h wird genetisch gesteuert (vgl. Abschn. 32,12.)
- 2) Die Steuerung erfolgt durch die beiden allelischen Komponenten h (Bande) und $\emptyset$ (evtl. "silent") (vgl. Abschn. 32,12.2)
- 3) Zwischen den beiden allelischen Komponenten bestehen dominant-rezessive Verhältnisse
- 4) $h > \emptyset$
- 5) A($\emptyset\emptyset$), C(h $\emptyset$), K(h $\emptyset$);

Von den übrigen drei P. müssen mindestens zwei (hh) angenommen werden, der dritte kann auch (h $\emptyset$) sein, wobei die Möglichkeit B(h $\emptyset$) bereits unter der Signifikanzgrenze von $\hat{\alpha} = 5\%$ liegt. Die glaubwürdigste Variantenkombination ist (B und D und E) (hh)

- 6) Unter den gegebenen Voraussetzungen ist diese Hypothese die einzige einfache genetische Interpretation, die den experimentellen Ergebnissen nicht widerspricht.

32,12.3 Die schwachen Banden

32,12.31 Die Position a

Dieselben Voraussetzungen wie bei den Banden b und h führen bei a zu den beiden möglichen Dominanzhypothesen

Fall 1 : $a > \phi$

Fall 2 : $a < \phi$

Im ersten Fall kommen als genetische Varianten $B_1(aa)$ und $B_2(a\phi)$ in Frage, für alle übrigen $P.(\phi\phi)$. B_1 entfällt, da alle Nachkommen aus Kreuzungen mit B nur F1 (a) wegen $(a\phi)$ und $a > \phi$, sein könnten.

B_2 führt in allen Kreuzungen zu einer Aufspaltungserwartung von $(a : \phi) = (2 : 2)$. Die folgende Uebersicht mit allen Kreuzungen mit dem Elter B zeigt, daß auch diese Variante abzulehnen ist:

Kreuzung	Nr.	experimentelle Phänotypen- aufspaltung $a : \phi$	$\hat{a}$ (% , Stufe 4)
AB	1	0 4	13
BC	3	0 4	13
BE	4	0 10	0.4
CB	5	0 10	0.4
DB	7	0 4	13
EB	9	0 10	0.4
KB	11	0 8	1.3
$\hat{a}$ (% , Stufe 5)			$4 \cdot 10^{-4}$

Aus 4 der Kreuzungen ergeben sich signifikante Unterschiede der Hypothese gegenüber dem Experiment bereits auf Stufe 4,

die auf Stufe 5 bestätigt werden. Damit muß $a > \emptyset$ abgelehnt werden.

Die Annahme $a < \emptyset$ bedingt notwendig $B(aa)$, wobei für die übrigen $P_1 (a\emptyset)$ und $P_2 (\emptyset\emptyset)$ denkbar sind. Für Kreuzungen BP_1 ist die theoretische Phänotypenaufspaltung $(a : \emptyset) = (2 : 2)$, für BP_2 ist sie $(0 : 4)$. Für verschiedene Eltern der ersten Variante wäre die Aufspaltungserwartung $(a : \emptyset) = (1 : 3)$. Da eine Bande a in der gesamten F_1 nicht vorkommt, wird die beste Anpassung zwischen Hypothese und Experiment erreicht, wenn die Hypothese außer für B für alle Eltern $P_2 (\emptyset\emptyset)$ unterstellt. Es ließen sich Irrtumswahrscheinlichkeiten für Hypothesen, daß einzelne oder mehrere von ihnen dennoch $P_1 (a : \emptyset)$ angenommen werden, errechnen, doch bringt die Durchführung dieser Berechnung keine Schärfung der Hypothese. Zusammenfassend ergibt sich für a folgende Hypothese:

- 1) Das Erscheinen der Bande a wird genetisch gesteuert (Abschnitt 32,12.)
- 2) Die Steuerung erfolgt durch die beiden allelischen Komponenten a (Bande) und $\emptyset$ (evtl. "silent")
- 3) Zwischen den beiden allelischen Komponenten bestehen dominant-rezessive Beziehungen
- 4) $a < \emptyset$
- 5) $B(aa)$; jeder der übrigen Eltern kann $P_1(a\emptyset)$ oder $P_2(\emptyset\emptyset)$ sein, wobei die Hypothese umso besser angepaßt erscheint, je mehr von ihnen als P_2 angenommen werden
- 6) Unter den gegebenen Voraussetzungen ist diese Hypothese die einzige einfache genetische Interpretation, die den experimentellen Ergebnissen nicht widerspricht.

32,12.32 Die Positionen c , d , f und i

Unterstellt man für die verbleibenden 4 Bandenpositionen parallele hypothetische Alternativen, wie für die starken Banden (Abschnitt 32,12.2), dann zeigt sich, daß die experimentellen Werte allen denkbaren Varianten der Hypothese widersprechen.

Die ausschließenden Fälle für die Hypothesen zu c werden in der Uebersicht 19 zusammengestellt. Die Aufspaltung in AC läßt bei $c > \emptyset$ nur die Hypothese C(cc) zu, C(c $\emptyset$) wird mit $\hat{\alpha} = 0.4\%$ Irrtumswahrscheinlichkeit abgelehnt. Die Variante C(cc) wird jedoch durch KQ04($\emptyset\emptyset$) widerlegt.

Auch die Kreuzungen Nr. 5, 6 und 8 schließen C(cc) qualitativ aus. Sie würden C(c $\emptyset$) erfordern, und zwar stets in der Kombination mit dem anderen Elter P.(c $\emptyset$). In Kreuzung 11 errechnet sich jedoch auch bei B(c $\emptyset$) ein $\hat{\alpha} = 1.3\%$.

Unter der Voraussetzung der Dominanzhypothese $c < \emptyset$ widersprechen die Kreuzungen A₁C und CB der einzig denkbaren Variante C(cc) auf Stufe 3, A₂C auf Stufe 4 mit $\hat{\alpha} = 0.4\%$. Die einzige Variante B(cc) fällt qualitativ mit den Phänotypen der F1 in AB, CB, DB und K₁B, auf Stufe 4 auch in K₂B mit $\hat{\alpha} = 1.3\%$. Damit sind auch gleichzeitig beide Varianten der Eltern A und K sowie die einzige Variante von D ausgeschlossen.

Auf die Wiedergabe der entsprechenden Uebersichten zu den genetischen Hypothesen für die restlichen Bandenpositionen wird verzichtet; die daraus abzuleitenden Ergebnisse können in kurzen Worten wie folgt zusammengefaßt werden:

Der Hypothese $d > \emptyset$ widerspricht die Kreuzung Nr. 8 in 3 der denkbaren Varianten auf Stufe 3, in der vierten mit einer Signifikanz von $\hat{\alpha} = 10^{-3}$ (%), Stufe 4) bei Verwerfen der unsicher angesprochenen Banden d', von $\hat{\alpha} = 0.3$ (%), Stufe 4) bei Annahme d' = d. Auch die F1 aus K($\emptyset\emptyset$) $\times$ B($\emptyset\emptyset$), der einzig denkbaren Variante der Kreuzung KB, widerlegt die Hypothese qualitativ durch (KB.06 und KB.08) (d).

Die Annahme $d < \emptyset$ ermöglicht ebenfalls keine widerspruchsfreie genetische Hypothese: die Kreuzung DC mit der einzigen denkbaren Variante "beide P.(dd)" zeigt im Experiment mindestens 7, höchstens 9 von 10 Individuen F1($\emptyset$).

Die entsprechenden Hypothesen für die Banden f und i ergeben auf dieselbe Art Widersprüche gegenüber den experimentellen Ergebnissen.

Uebersicht 19: Ablehnung der genetischen Hypothese zur Bandenposition c

Kreuzung			Phänotypenaufspaltung				Möglichkeit (+) Ausschluß (-) aufgrund von	
P.	Varianten P.	Nr. P.	experiment.		theoret.		Stufe 3	Stufe 4 α (%)
			mit Bande	ohne Bande	mit Bande	ohne Bande		
Dominanzhypothese $c > \phi$								
AC	$(\phi\phi) \times (c\phi)$	2	10	0	2	2	+	0.4
CB	$(cc) \times (cc)$ $(cc) \times (c\phi)$	5	9	1	4	0	-	
CE	$(cc) \times (cc)$	6	8	1	4	0	-	
DC	$(cc) \times (c\phi)$	8	9	1	4	0	-	
KB	$(\phi\phi) \times (c\phi)$	11	8	0	2	2	+	1.3
KC	$(\phi\phi) \times (cc)$	12	3	1	4	0	-	

Dominanzhypothese $c < \phi$

AB	$(\phi\phi) \times (cc)$	1	4	0	0	4	-	
AC	$(\phi\phi) \times (cc)$ $(c\phi) \times (cc)$	2	10	0	0	4 2	- +	0.4
CB	$(cc) \times (cc)$	5	9	1	4	0	-	
DB	$(cc) \times (cc)$	7	4	1	4	0	-	
KB	$(\phi\phi) \times (cc)$ $(c\phi) \times (cc)$	11	8	0	0	4 2	- +	1.3

Somit kann für keine der schwachen Banden mit Ausnahme von a eine einfache genetische Hypothese auf der Basis der unter 32,12. angeführten Beobachtungen widerspruchsfrei errichtet werden.

Im Hinblick auf die Häufigkeit des Vorkommens einer bestimmten Bande in den Eltern läßt sich das Material - für jede Bande getrennt - in 3 Gruppen sortieren: die Bande kann in keinem, in einem oder in beiden Eltern einer Kreuzung als charakteristisch festgestellt worden sein. Dementsprechend wäre ein genetisch begründeter quantitativer Einfluß auf die Häufig-

keiten, mit denen die betr. Bande in den Nachkommenschaften gefunden wird, denkbar.

Gruppiert man die Nachkommenschaften für diejenigen Banden, für die eine qualitative genetische Interpretation nicht begründet werden kann, nach diesem Kriterium, dann ergeben sich die in der folgenden Uebersicht 20 dargestellten Listen der relativen Häufigkeiten.

Es zeigt sich z.B., daß von den 4 Kreuzungen, in denen beide P. die Bande **d** nicht zeigen, nur bei einem Viertel der F1 der Kreuzung Nr. 11, KB, die Bande **d** gefunden wurde, also bei insgesamt 2 von 35 Nachkommen. Damit unterscheiden sich diese Kreuzungen (Varianzanalyse siehe Anhang) auf einem Niveau von 5% signifikant von denjenigen, in denen bei einem Elter die Bande **d** vorkam: von den 46 Individuen der F1 haben 20 Phänotyp mit (**d**). Allerdings wird nach Verwerfen der Banden **d'** in F1 nur noch eine Signifikanz bei 10% erreicht, bei Streichung der Fälle von **d*** auch diese nicht mehr. Die einzige Kreuzung mit beiden P.(**d**), DC (Nr.8) bestätigt den grundsätzlich denkbaren quantitativen Zusammenhang nicht.

Für die übrigen schwachen Banden wird in keinem Fall eine Signifikanz zwischen den F1 der in der genannten Form gruppierten Kreuzungen errechnet: es gibt keinen Anhaltspunkt zu der Annahme, daß die Häufigkeit der Banden **c**, **f** und **i** in F1 in einem quantitativen Zusammenhang zum Vorkommen der Banden in keinem, einem oder beiden der Eltern steht. Es gibt weiterhin keinen Grund zu der Annahme, daß außergewöhnlich "schwache" oder "zweifelhafte" Fälle in F1 dann häufiger auftreten, wenn die betr. Bande in den beiden P. nicht oder nur einmal vorkommt.

Übersicht 20

Schwache Banden (c,d,f,i) der Zymogramme aus Nadelextrakten des Douglasien-Kreuzungsmaterials: relative Häufigkeiten in den F₁ der einzelnen Familien, diese sortiert nach dem Vorkommen der betr. Bande in keinem (OP.), einem (1P.) oder beiden (2P.) der Eltern der Kreuzung.

Bedeutung der Spaltennummern:

- 1 : Relative Häufigkeit der Nachkommen mit der betr. Bande in der F₁ der betr. Kreuzung ("gut" + "schwach" + "zweifelhaft")
 2 : wie 1, jedoch nach Streichung der zweifelhaften Fälle ("gut" + "schwach")
 3 : wie 2, jedoch nach Streichung nun auch der schwachen Fälle (nur "gute" Banden)

Wurde eine Bande in keinem Fall "zweifelhaft" oder "schwach" festgestellt, dann wurde die entsprechende Spalte ganz weggelassen.

Als charakteristisch wurde angesehen:													
in Kreuzung Nr.		Bande c bei					Bande d bei						
		1P.		2P.			OP.		1P.			2P.	
		1	3	1	2	3	1	1	2	3	1	2	
AB	1	100	100				0						
AC	2	100	90					50	50	30			
BC	3			100	100	25		75	75	0			
BE	4			100	100	100	0						
CB	5			90	70	60		40	20	20			
CE	6			89	67	56		33	33	0			
DB	7			100	50	25		75	50	0			
DC	8			90	70	60					30	10	
EB	9			100	100	100	0						
EC	10			100	100	100		0	0	0			
KB	11	100	100				25						
KC	12	75	50					20	20	0			

in Kreuzung Nr.		Bande f bei						Bande i bei					
		OP.		1P.			2P.	OP.		1P.		2P.	
		1	3	1	2	3	1	1	1	2	1	2	3
AB	1	100	75					100					
AC	2			80	80	70			20	20			
BC	3			75	75	75			100	100			
BE	4	0	0						100	100			
CB	5			20	10	10			80	70			
CE	6			33	0	0					100	44	44
DB	7			0	0	0			50	50			
DC	8						0				50	50	30
EB	9	0	0						10	10			
EC	10			20	20	20					100	100	100
KB	11	0	0					100					
KC	12			0	0	0			25	25			

Zusammenfassend ist für die schwachen Banden festzustellen,

1. daß nur für eine von ihnen, a, eine genetische Interpretation im selben Sinne wie für die starken Banden zur Diskussion steht
2. daß nur für die Bande d die Vermutung eines quantitativen Zusammenhangs zwischen den Häufigkeiten in den beiden Generationen in Betracht gezogen werden kann
3. daß damit für die Banden c, d, f und i eine einfache genetische Interpretation auf der Basis der Mendelgesetze aus dem Material nicht denkbar erscheint.

32,13. Konsequenz aus den Ergebnissen von 32,1

Kurz zusammengefaßt ergibt sich aus dem ersten Teil des Hauptversuchs, daß die angewendete Methodik grundsätzlich geeignet ist, Isoperoxidasen von vegetativem Douglasienmaterial, und zwar speziell aus Nadelextrakten, einer genetischen Interpretation zugänglich zu machen. Banden, für die das möglich ist, können somit zur individuellen Charakterisierung herangezogen werden. Weitere Banden, die zwar regelmäßig und deutlich, aber weniger intensiv erscheinen, sind wahrscheinlich nicht zur Genotypenidentifizierung geeignet: ihre genetische Basis konnte nicht nachgewiesen werden. Ob die genetische Relevanz der einzelnen Bande an ihrer normalerweise festgestellten Intensität erkannt werden kann, ist jedoch wegen des Verhaltens der Bande a nicht mit Sicherheit zu entscheiden.

Ein Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Muster und methodischen, ontogenetischen (topophysischen, cyclophysischen, jahreszeitlichen) Einflüssen kann aus dem vorliegenden Material nicht analysiert werden.

Alle Aussagen aus diesem Versuch haben hypothetischen Charakter.

32,2 Gewebekulturextrakte des Kreuzungsmaterials

32,21 Darstellung der Phänotypen

In Übersicht 21 sind die aus Gewebekulturextrakten des Kreuzungsmaterials gewonnenen und zur Auswertung herangezogenen Zymogramme zusammengestellt. Sie gliedert sich nach den untersuchten Individuen (P. und F1), für deren jedes zwei Zahlenserien (diese unterteilt nach den laufenden Nummern der Extrakte) angegeben werden: zuerst die absoluten Anzahlen der mit Qualität "2" = sicher festgestellten Banden innerhalb der Wiederholungen jedes einzelnen Extraktes, sodann die Gesamtzahlen der Feststellungen mit Qualitäten "(1+2)" = sichere plus unsichere Banden. Zusätzlich werden (vor den absoluten Zahlen der sicheren Banden) die Gesamtzahlen der von jedem einzelnen Extrakt ausgewerteten Zymogramme angegeben, wo von einem Individuum mehr als 1 Zymogramm vorliegt.

Im Ganzen gesehen verhalten sich die Muster ebenso wie die im Abschnitt 31,22.vorgestellten Zymogramme der Vorversuchscalli X.2 und X.4: ebensowenig wie dort lassen sie sich hier nach dem "herkömmlichen Verfahren" festlegen. Das Protokoll nach dem im Abschnitt 22,5 dargestellten Verfahren, in Übersicht 21 überschaubar zusammengestellt, zeigt qualitativ die gleichen Unterschiede sowohl zwischen den Wiederholungen der einzelnen Extrakte wie auch zwischen den Extrakten von Calli derselben Douglasie wie auch zwischen den Douglasien auf. Deshalb ist es nicht möglich, individualtypische Muster aus den Calluszymogrammen festzulegen, wie dies bei den Nadelextrakten gemacht werden konnte. Unterschiede zwischen den Individuen bzw. den Nachkommenfamilien werden jedoch augenfällig, wenn man die Banden der Zymogramme entsprechend ihrer optischen Erscheinung zu Gruppen zusammenfaßt:

Die Gruppe I besteht aus den stets starken, überfärbenden Banden in den Positionen 1 bis 4, die in fast allen Zymogrammen auftreten. Von ihnen wird in einigen Extrakten lediglich die Bande 3 und noch seltener die Bande 4 als fehlend eingestuft.

Übersicht 21:

Zymogramme der Gewebekulturextrakte des Douglasien-Kreuzungsmaterials, gegliedert nach Individuen (Gewebeclonen), Bandenqualitäten ("sicher" bzw. "sicher + unsicher") und den einzelnen Extrakten. Die Zahlen bedeuten Bandenbeobachtungen an den betr. Positionen

		Gruppe Nr. I				II														III														IV							
		Position Nr.																																							
		1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28													
Ext. Nr.	Ans. Wdk.																																								
A "2"	1	5	5	4	4	3	1		3		1			1	1	5	5	5	3	1							1	5	8												
	2	8	8	7	6	7	1	1	3	1	7					2	2	2	2									1	5												
	3	10	10	8	4	7			1	1	1						11	11	8	3								3	9												
	4	13	12	9	9	2	4	2		2	3		1			8	11	11	8	3								2	13												
	5	12	2	1	2	2										1	1	1	1									1	2												
A "1+2"	1		5	5	5	5	1	4	1		4	8		2	2	5	5	5	4	2									2	5											
	2		8	8	8	8	1	7	1		6	2	4			2	2	2	2	1									1	8											
	3		10	10	10	10	1	9	1	1	4	1	5				11	11	11	9	4	1							3	10											
	4		13	13	13	13	4	9	4	1	12	1	13		10	6	11	11	11	9	4	1							5	13											
	5		2	2	2	2		2			2	1		1		1	1	1	1			1							2	2											
"2"	1		4	4	4	4	2	1																					2	4											
	2		4	4	4	3	3	3																					4	1											
	3		4	4	4	3	3	3									1	1	1	1									1	4											
	4		7	7	7	7	6	7			3					5	6	6	6	3									7	7											
	5		4	4	4	2	4	4			2	2				1	2	2	2	1									4	2											
	6		2	2	2	2	2	2	1		2	2				1	2	2	2											2	2										
	7		6	6	6	2	6	6			3																			6	6										
	8		3	3	3	3	3	3			3																			3	3										
	9		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
	10		4	4	4	3	4	4			4																			4	4										
	11		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
	12		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
	13		6	6	6	5	4				3																			6	6										
	14		13	13	13	13	13	13			13					4	4	4	4	4			4	2	2					4	4										
	15		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
3 "1+2"	1		4	4	4	4	3	2																						4	4										
	2		4	4	4	3	4	4																						4	4										
	3		4	4	4	4	4	4																						4	4										
	4		7	7	7	7	7	7			7			6		6	6	6	5	2										3	4										
	5		4	4	4	4	4	4			4			2		2	2	3	3	2										4	4										
	6		2	2	2	2	2	2	1		2					2	2	3	3			1								2	2										
	7		6	6	6	6	6	6			6																			6	6										
	8		3	3	3	3	3	3			3																			3	3										
	9		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
	10		4	4	4	3	4	4			4																			4	4										
	11		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
	12		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
	13		6	6	6	5	4				3																			6	6										
	14		13	13	13	13	13	13			13					4	4	4	4	4			4	2	2					4	4										
	15		5	5	5	5	5	5			5																			5	5										
G "2"	1		4	4	4	1	2	1			1																				4	4									
	2		4	4	4	1	2	1																							4	4									
	3		4	4	4																										4	4									
	4		9	9	9	9	7	7			7			7	2	7	2	2	2	1											9	9									
	5		1	1	1	1	1	2			2																				2	2									
	6		3	3	3	3	2	3			3			3	1	2	1	2													3	3									
	7		2	2	2	2	2	2			2																				2	2									
	8		5	5	5	4	1	5			4			1	2	1	1	2	1	1	1	1									4	4									
	9		6	6	6	6	3	6			5			1	1	1	1	1	1	1											6	6									
	10		9	9	9	8	2	7			3			3	2	1	1	1	1	1											7	7									
	11		9	9	9	9	6	7			7			2	7	5	3	2													12	12									
	12		6	6	6	6	5	2			5			6	4	1															6	6									
	13		21	20	6	21		8			15			6	15	20	1	6	3												17	17									
	14		1	1			1				1																				1	1									
G "1+2"	1		4	4	4	3	1			1																					4	4									
	2		4	4	4	4	1																								4	4									
	3		4	4	4	3	3																								4	4									
	4		9	9	9	9	9			9				9	4	7	6	6	6	1											9	9									
	5		2	2	2	2	2			2																					2	2									
	6		3	3	3	3	3			3				3	3	3															3	3									
	7		2	2	2	2	2			2				2	1	2															2	2									
	8		5	5	5	5	4			4				1	4	5	1	2	1	2	1										5	5									
	9		6	6	6	6	6			6				5	1	5	5	2	2	1											6	6									
	10		9	9	9	9	4			9				1	5	4	1	1	1	1											9	9									
	11		12	12	12	10	12			12				8	2	7	8	3	4												12	12									
	12		6	6	6	6	6			6				6	5	6															6	6									
	13		21	20	17	21		8		15				6	15	20	1	9	3												19	19									
	14		1	1	1	1	1			1																					1	1									

		I										II										III											
Extra Nr.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
D"2"	1 2 3 4	5 4 10 4	5 4 9 4	4 4 6 4	5 4 9 3	4 3 7	1 3 7	4 1 1	5 2 5	5 1 5	5 3 10	5 3 3	5 2 1	5 8 1	5 1 1	5 1 2	5 5 2	5 5 2	5 5 2	5 5 2	2 1 1	1 1 1	1 1 1	1 7 1	8 8 2	2 4 2	5 3 4	5 3 4	5 3 4	5 3 4			
D"1+2"	1 2 3 4	5 4 11 4	5 4 11 4	5 4 11 4	5 4 11 4	4 3 7	1 3 7	4 1 1	5 2 5	5 3 1	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6	5 1 6		
E"2"	1 2 3 4 5 6 7 8	4 9 6 2 2 2 2 2	4 9 6 2 2 2 2 2	4 9 6 2 2 2 2 2	4 9 6 2 2 2 2 2	1 2 2 2 2 2 2 2	2 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2			
E"1+2"	1 2 3 4 5 6 7 8	4 9 6 2 2 2 2 2	4 9 6 2 2 2 2 2	4 9 6 2 2 2 2 2	4 9 6 2 2 2 2 2	1 2 2 2 2 2 2 2	2 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2	1 1 2 2 2 2 2 2			
K"2"	1 2	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	
K"1+2"	1 2	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	4 26	
AB.01"2"	1	4	2	2	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
AB.01"1+2"	1	4	4	4	1	4	4	4	3	1	4	4	4	3	1	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
AB.02"2"	1	4	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AB.02"1+2"	1	4	4	4	3	4	4	4	3	1	4	4	4	3	1	4	4	4	4	3	1	4	4	4	4	3	1	4	4	4	4	4	
AB.03"2"	1	4	3	3	4	4	4	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
AB.03"1+2"	1	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
AB.04"2"	1	3	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
AB.04"1+2"	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
AO.01"2"	1	6	6	6	6	2	3	2	2	3	2	4	1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
AO.01"1+2"	1	6	6	6	6	2	4	2	3	3	3	6	1	2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
AO.02"2"	1	6	6	6	4	1	4	2	3	2	4	3	3	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
AO.02"1+2"	1	6	6	6	6	2	4	2	2	4	2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
AO.03"2"	1	6	6	6	2	2	2	2	3	1	3	3	2	2	3	5	5	5	5	3	1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
AO.03"1+2"	1	6	6	6	5	3	3	3	4	2	4	5	5	5	6	6	6	6	6	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
AO.04"2"	1	6	5	5	6	2	4	2	2	3	1	6	4	3	3	6	6	6	6	6	5	1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
AO.04"1+2"	1	6	6	6	4	2	4	2	3	3	3	6	6	5	6	6	6	6	6	6	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
AO.05"2"	1	6	6	5	3	3	3	3	2	1	1	4	4	4	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
AO.05"1+2"	1	6	6	6	5	4	4	4	4	4	4	4	4	2	2	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.06"2"	1	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.06"1+2"	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.07"2"	1	3	3	3	3	1	2	1	1	2	1	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AO.07"1+2"	1	3	3	3	3	1	2	1	1	2	1	3	3	2	1	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AO.08"2"	1	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.08"1+2"	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.09"2"	1	3	3	3	3	3	3	1	2	1	3	1	1	3	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.09"1+2"	1	3	3	3	3	3	3	1	2	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.10"2"	1	3	3	3	1	1	2	1	2	1	1	2	1	1	2	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
AO.10"1+2"	1	3	3	3	3	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

	I				II												III												IV			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28				
Extr.	Fr.	Wd.																														
Nr.																																
G.01"2"	1	3	3	3	1			2																								
	2	4	4	4	4			3	1	3																3	3	1				
G.01"1+2"	1	3	3	3	2	1	2	2																		2	3	3				
	2	4	4	4	4			3	1	3	2	1	1													1	3	3				
G.02"2"	1	3	3	2	2	1	2	3		3	2		3	2	3																	
G.02"1+2"	1	3	3	3	2	1	2	3		3	3		3	2	3	3	3	3														
G.03"2"	1	4	4	1	4	3		3		3			3		2	2																
	2	4	4	4	4	2		2		3			3		2	1																
	3	3	3	3	3	3		3		3			3		3	3	3	3	3	3												
G.03"1+2"	1	4	4	1	4	3		3		3			3		2	2																
	2	4	4	1	4	3		2		3			3		2	1																
	3	3	3	3	3	3		3		3			3		3	3	3	3	3	3												
G.04"2"	1	4	4	4	4	3		3		2		2																				
	2	4	4	4	4	3		3		2		2																				
	3	3	3	3	3	3		3		3		3																				
	4	2	1	1	2	1	1	3		2		3																				
G.04"1+2"	1	4	4	4	4	3		2		2		2																				
	2	4	4	4	4	3		2		2		2																				
	3	3	3	3	3	3		3		3		3																				
	4	1	1	2	1	1	1	2		2		2																				
E.01"2"	1	2	2	2	2	1	1	1		1	1		1		1	2	2	2	1													
	2	2	2	2	2	2	1	2		1	2		2		2	1	1	1														
E.01"1+2"	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	2	1	1		1	2	2	2	1													
	2	2	2	2	2	2	2	2		2	2		2		2	1	1	1														
E.02"2"	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1																					
E.02"1+2"	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1		1	1	1	1														
E.03"2"	1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1																					
E.03"1+2"	1	2	2	2	2	1	1	1	2	2																						
E.04"2"	1	2	2	2	2	2		2		1	2	2																				
E.04"1+2"	1	2	2	2	2	2		2		2	2																					
E.05"2"	1	2	1	1	2	2		2		2	2	1	1	1																		
	2	2	2	2	2	1		1		1	1																					
E.05"1+2"	1	2	2	1	2	2		2		2	2	1	1	1																		
	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1																		
E.06"2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3	1																				
E.06"1+2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3	1																				
E.07"2"	1	3	3	3	3	3		2		1																						
E.07"1+2"	1	3	3	3	3	3		2		2																						
E.08"2"	1	3	3	3	3	3		1	2	1	3		1		1																	
E.08"1+2"	1	3	3	3	3	3		1	2	1	3		2		1																	
E.09"2"	1	3	3	1	1	3		1		1																						
E.09"1+2"	1	3	3	3	3	3		1	1	1	2																					
E.10"2"	1	3	3	2	2	3		2		1																						
E.10"1+2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3		3																			
B.01"2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3	3																				
B.01"1+2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3	3																				
B.02"2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3																					
	2	3	3	3	3	3		2																								
	3	4	4	4	4	4																										
B.02"1+2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3																					
	2	3	3	3	3	3		2																								
	3	4	4	4	4	4		2																								
B.03"2"	1	3	3		3																											
B.03"1+2"	1	3	3	3	3																											
B.04"2"	1	4	4	1	4	2		2																								
	2	4	4	4	4	1		2																								
B.04"1+2"	1	4	4	4	4	3		2																								
	2	4	4	4	4	1																										
B.05"2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3		3		3	3	3	3	3	2		2										
B.05"1+2"	1	3	3	3	3	3		3		3	3		3	1	3	3	3	3	3	2		2										

	I														II														III													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28														
Extr. Nr.	Ar2	Ar3	Ar4	Ar5	Ar6	Ar7	Ar8	Ar9	Ar10	Ar11	Ar12	Ar13	Ar14	Ar15	Ar16	Ar17	Ar18	Ar19	Ar20	Ar21	Ar22	Ar23	Ar24	Ar25	Ar26	Ar27	Ar28															
CB.06"2"	1	3	3	3	3	3				3					2	3	3	2	2									2														
CB.06"1+2"	1	1	3	3	3	3				3			1		3	3	3	2	2									2	2													
CB.07"2"	1	4	4	4	1	1										4	4	4	4							1	4															
	2	4	4	4		3										4	4	4	4							2	3															
	3	3	3	3	3	3				3			2			2	2	2	2							2	1	4	4													
	4	4	1		4					4																																
CB.07"1+2"	1	4	4	4	4	4				3			1			4	4	4	4	1		1				2	4	4	4													
	2	4	4	3	4	4				3			3			4	4	4	4	2						2	4	4	4													
	3	3	3	3	3	3				3			3	2		2	2	2	2							2	2	3	2													
	4	3	3	1	4	4			2	1																3	3	4	4													
CB.08"2"	1	3	3	3	3	3				2				3	2	3	3	3	3	2						2	3	3														
CB.08"1+2"	1	1	3	3	3	3				3				3	3	3	3	3	3	2						2	3	3														
CB.09"2"	1	4	4	4	1	4				2			1	1		4	4	4	4	4						2	4	1														
	2	4	4	4	2	4				2			1	1		3	4	4	3	1						2	1															
	3	2	2	2	2	2				2			1		1	1	2	2	2	1						1	1															
CB.09"1+2"	1	4	4	4	4	4				4			2	2		1	4	4	4	4	4	1				4	4	4														
	2	4	4	4	4	4				4			3	3		1	4	4	4	4	4					2	2	1														
	3	2	2	2	2	2				2			2	2		2	2	2	2	2		1			1	1	1															
CB.10"2"	1	2	2	2	2	2				2			1			1	2	2	2	1	1					1	2	2														
CB.10"1+2"	1	1	2	2	2	2				2			1	1		2	2	2	2	1	1				1	1	1	2	2													
CE.01"2"	1	4	1	1	1	1				1				1													1	1														
	2	3	3	3	1	1				2																	1	2														
CE.01"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1											1	1														
	2	3	3	3	3	3	1		1	2	1	2	1	3		1										1	1	2														
CE.02"2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1								1	1														
CE.02"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1								1	1														
CE.03"2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1								1	1														
CE.03"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1								1	1														
CE.04"2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1																							
CE.04"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1								1	1														
CE.05"2"	1	4	1	1	1	1	1			1			1	1		1	1	1	1	1	1						1	1														
	2	1	1	1										1		1																										
CE.05"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1	1	1						1	1														
	2	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1	1	1						1	1														
CE.07"2"	1	1	1	1	1	1				1				1		1	1	1	1	1	1	1					1	1														
CE.07"1+2"	1	1	1	1	1	1				1				1		1	1	1	1	1	1	1				1	1															
CE.08"2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1																							
	2	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1																							
CE.08"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1	1	1						1	1														
	2	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1																							
CE.09"2"	1	1	1	1	1	1																																				
CE.09"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1	1	1	1	1						1	1	1													
CE.10"2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1														1	1													
CE.10"1+2"	1	1	1	1	1	1				1			1	1		1	1											1	1													
DB.01"2"	1	3	3	3		3				3			3	1	1		3	3	3	3	1							1	1													
DB.01"1+2"	1	1	3	3	3	3				3			3	2	3		3	3	3	3	3	2	1			1	2	2														
DB.02"2"	1	3	3	3	1	3				1			2	3	3		3	3	3	3	3	2	2			1	2	3	3													
DB.02"1+2"	1	1	3	3	3	3				2			1	2	1	3	3	3	3	3	3	2	2			2	2	1	3	3												
DB.03"2"	1	3	3	3	2					2			3	2	1		1	2	2	1	2		2			2	2	2														
DB.03"1+2"	1	1	3	3	3	3				3			3	3	3		3	2	2	2	2	1	2			1	2	3	3													
DB.04"2"	1	3	3	3	1	3				1	2	1	2	3	3		1	3	3	3	3	3						1	1													
DB.04"1+2"	1	1	3	3	3	3				1	2	1	3	3	3		3	3	3	3	3	3	3					1	1													

	I	II	III	IV
	1 2 3 4	5 6 7 8 9 10 11 12 13 14	15 16 17 18 19 20 21 22 23	24 25 26 27 28
DC.01"2"	1 3	3 3 2 3	2 1 2 2 1 2 2	1
DC.01"1+2"	1	3 3 3 3	2 1 2 2 1 2 3	3
DC.02"2"	1 3	3 3 3 3	2 2 1	1
DC.02"1+2"	1	3 3 3 3	3 3 2 1 2 1	2
DC.03"2"	1 3	3 3 2 3	2 1 2 1 1 2 3	3 1
DC.03"1+2"	1	3 3 3 3	2 1 2 2 1 2 3	3 1
DC.04"2"	1 3	2 2 1 3	1 1 1 1 2 1 3	2
DC.04"1+2"	1	3 3 3 3	1 2 1 1 2 1 3	3
DC.05"2"	1 3	2 2 3	3 3 3 3	3
DC.05"1+2"	1	3 3 3 3	3 3 3 3	3
DC.06"2"	1 3	2 2 1 3	3 3 3 1	2
DC.06"1+2"	1	3 3 3 3	3 3 3 1	2
DC.07"2"	1 2	2 2 1 2	1 1 1 1 2 1	1
DC.07"1+2"	1	2 2 2 2	1 1 1 1 2 1	1
DC.08"2"	1 2	2 2 2 2	1 2 2	1
DC.08"1+2"	1	2 2 2 2	2 2 2 1	1
DC.09"2"	1 2	2 2 2	1 1 1	1
DC.09"1+2"	1	2 2 1 2	2 1 1 1	1
DC.10"2"	1 2	2 2 2 2	2 1 1 1 2 1	1
DC.10"1+2"	1	2 2 2 2	2 1 1 1 2 1	1
EB.01"2"	1 2	2 2 1 2	2 1 1 1 1 2 1 2	2
EB.01"1+2"	1 2	2 2 2 2	2 1 1 1 1 2 1 2	2
EB.02"2"	1 2	2 2 1 2	1 1 1 1 1 1	1
EB.02"1+2"	1 2	2 2 2 2	1 1 1 1 1 1	1
EB.03"2"	1 2	2 2 2 2	2 2 2 2 1	1
EB.03"1+2"	1	2 2 2 2	2 2 2 2 1 1	1
EB.04"2"	1 2	2 2 1 2	1 2 2 2 1	1
EB.04"1+2"	1 2	2 2 1 2	1 2 2 2 1	1
EB.05"2"	1 2	2 2 2 2	2 1 1 1 1	1
EB.05"1+2"	1	2 2 2 2	2 1 1 1 2 1 2	1
EB.06"2"	1 3	3 3 3 2	3 1 2	1
EB.06"1+2"	1	3 3 3 3	3 2 1 2 2 2 1	1
EB.07"2"	1 3	3 3 3	3 3 3 1	1
EB.07"1+2"	1	3 3 3 3	3 3 3 2	1
EB.08"2"	1 3	3 3 3 3	1 2 1 1 1 1	1
EB.08"1+2"	1	3 3 3 3	1 2 1 2 2 1	1
EB.09"2"	1 3	3 3 3 3	3 3 3 1	1
EB.09"1+2"	1	3 3 3 3	3 3 3 2	1
EB.10"2"	1 3	3 3 3 3	3 3 3 1	1
EB.10"1+2"	1	3 3 3 3	3 3 3 2	1

	I														II														III																						
	Extr	Ans													1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30							
	Nr.	Wk.																																																	
EC.01"2"	1	5	5	5	3	4	2	1	2	1	1		2	1	3	3	4	4	4	4	4																				4	4									
EC.01"1+2"	1		5	5	5	5	3	2	3	1	4	1	5	1	4	4	4	4	4	4	4	1																				4	4								
EC.02"2"	1	4	4		4	3		4	4		2	4					4	4	4	4																						4	1								
	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1																															1	1								
EC.02"1+2"	1		4	4	3	4	4	4	4	4	4	1	3			2	4	4	4	4	2																					2	4								
	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1																															1	1	1							
EC.03"2"	1	2	2	2	1	1		2			1	1		1	1	2	2																											2							
	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1																																	2								
EC.03"1+2"	1		2	2	2	2	2	2	1		2	2		1	1	2	2																											2							
	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1																																	2							
EC.04"2"	1	2	2	2	1			1			1					2	2	2	1																								2	2							
EC.04"1+2"	1		2	2	2	1		1	1		2	2		2	1	2	2	2	1																									2	2						
EC.05"2"	1	2	2	2	2			2	2		2	2		2	1	2	2	2	2	2	1																							2							
EC.05"1+2"	1		2	2	2	2		2	2		2	2	1	2	1		2	2	2	2	2																							2							
KB.01"2"	1	5	5	5	4	5	4	2	3	2	5		4			3	2	2	2	2	1	2																						4	4	5					
KB.01"1+2"	1		5	5	5	5	5	2	3	2	5		5			3	2	2	2	2	2	2																						4	4	5					
KB.02"2"	1	5	5	5	5	5	4	1	2	1	2	2				2	3	2	3	2	2	2																						2	4	4					
KB.02"1+2"	1		5	5	5	5	4	2	3	2	4	2	2			2	4	4	4	2	2	3																						1	3	1	4	5			
KB.03"2"	1	2	2	2	2	2	2		2		2	1	2			1	1	1	1	1	1	2																							2	1	2				
KB.03"1+2"	1		2	2	2	2	2		2		2	1	2			2	1	1	1	1	1	2																							2	2	1	2			
KB.04"2"	1	2	2	2	2	2	1		2		1					1	1	1	1			1																								1	1	2			
KB.04"1+2"	1		2	2	2	2	1		2		2	2		2		1	1	1	1	1	1	2																							2	1	2				
KB.05"2"	1	3	3	3	1	3		1	1	1	1	1	3			3	3	2	3		2																								3	3	3				
KB.05"1+2"	1		3	3	3	3		2	1	1	2	1	3		1	1	3	3	2	3	1	3																						3	3	3					
KB.06"2"	1	3	3	3	2	3		2		2	3		1								2	1	2																						2	3	3				
KB.06"1+2"	1		3	3	3	3		3		3	3		3								2	1	2																						3	3	3				
KB.07"2"	1	3	3	3	2	3		1	2	1	3		3		2		1	3	3	3	2	1	2																						2	2	2				
KB.07"1+2"	1		3	3	3	3		1	2	1	3		3		1	2	1	3	3	3	2	1	2																					1	2	2	3				
KB.08"2"	1	3	3	3	3	3		1	1	2	1	1	3			1	2	2	2	2	2	2	2																						1	1	2	3			
KB.08"1+2"	1		3	3	3	3		1	2	2	1	1	3		2		1	2	2	2	2	2	2																						1	3	1	3	3		
KB.09"2"	1	3	3	3	3	3		1	2	1	2		3	1	2		1	3	3	1	1		1																							2	2	2			
KB.09"1+2"	1		3	3	3	3		1	2	1	2	1	3	1	2		2	3	3	2	1		1																						2	3	2				
KB.10"2"	1	3	3	3	3	3		2		1	2	1	3	2	3		2	3	2	2	2		2																							2	2	3			
KB.10"1+2"	1		3	3	3	3		2		1	2	1	3	2	3		2	3	2	2	2		2																							2	3	3			
KO.01"2"	1	6	6	6	3	6		4		4		5	1	5		5	6	5	5	3	1	2																								2	2	1	3	4	
KO.01"1+2"	1		6	6	5	6		6		6		6	1	6		6	6	5	5	3	2	2																									2	2	2	3	5
KO.02"2"	1	6	6	6	4	6		1	1	4	1	3	5		5		4	4	5	4	5	6																									5	1	5	5	
KO.02"1+2"	1		6	6	6	6		1	2	4	1	3	6	2	5		4	5	6	5	5	6																									6	2	5	5	
KO.03"2"	1	3	3	3	3	3		1	1	1	1		3		2		2	3	3	2	2	2	3																								2	3	3		
KO.03"1+2"	1		3	3	3	3		1	2	2	1		3		3		3	3	3	2	2	2	3																								3	1	3	3	
KO.04"2"	1	3	3	3	2	3		3		1	2		3	1	3		1	1	1	1		2																										2	3	3	
KO.04"1+2"	1		3	3	3	3		3		1	2		3	1	3		1	1	1	1		2																										2	3	3	
KO.05"2"	1	3	2	3	2	3		1	1	2	1	1	2		2		1	2	2			1																										1	1	3	3
KO.05"1+2"	1		3	3	2	3		1	1	2	1	1	3		2		2	2	2	1	<																														

Die Banden der anschließenden Gruppe II (mit den Hauptbanden 6, 9, 11 und 13) sind denen der ersten Gruppe ähnlich, unterscheiden sich aber von ihnen durch die mit steigender Positionsnummer i.d.R. abnehmende Intensität und Häufigkeit. Die dazwischenliegenden Positionsnummern von 5 bis 14 erscheinen von Banden besetzt, die sich zusätzlich oder alternativ in diese Reihe einordnen: anstelle von Bande 6 wird gelegentlich eine Doppelbande "5 und 7" beobachtet; ebenso verhalten sich die Banden "8 und 10" zur Bande 9. Die Banden 12 und 14 treten gelegentlich zusätzlich auf, wenn in den Positionen 11 bzw. 13 Banden registriert werden. Diese Zwischen- oder Doppelbanden sind jedoch nicht charakteristisch für bestimmte Extrakte oder Individuen, sondern sie werden ohne jeden ersichtlichen Zusammenhang (auch zu anderen Versuchsvarianten) festgestellt.

Die Banden der Gruppe III mit den Positionen 15 bis 23 sind schwächer und schärfer als die Banden der beiden vorigen Gruppen und fallen dadurch auf, daß bei typischer Ausbildung ihre Breite (quer zur Laufrichtung) von den äußersten Positionen (Anfang und Ende der Gruppe) zur Mitte hin zunimmt. Sie überfärben nicht und sind durch hellere Zonen getrennt, die sich über etwa dieselbe geringe Lauflänge erstrecken wie die Banden selbst. Die Banden "21 und 23" verhalten sich dabei zur Bande 22 ähnlich wie die Doppelbanden der vorigen Gruppe zur zugehörigen mittleren Position, doch wird hier einigemale beobachtet, daß anstelle der bei Ausbleiben von Bande 22 erwarteten Doppelbande nur die startnähere Position besetzt ist und Bande 23 fehlt.

Die Gruppe IV besteht aus den beiden schnellsten, meist starken Endbanden, denen bis zu 3 deutlich schwächere Banden folgen. Diese Gruppe erinnert in der optischen Erscheinung und in der Variation an die Bandengruppe Eta bis Lambda der Stärkeltrennung (vergl. Abschnitt 31,21.1).

Die Verteilung der Beobachtungszahlen in der Übersicht 21, in der die senkrechten Trennungslinien im Sinne dieser Bandengruppierung gezogen sind, macht die oben genannten "augenfälligen

Unterschiede" deutlich: während z.B. beim Elter B in Bandengruppe III nur in relativ wenigen Fällen sichere Banden beobachtet werden, treten sie in der ganzen Nachkommenschaft AB recht häufig auf, wie sie auch beim Elter A verhältnismäßig häufig beobachtet worden sind. Auch bei Elter E werden in Gruppe III wenige Banden der Qualität "2" beobachtet, und die beiden Nachkommenschaften aus reziproken Kreuzungen der Eltern B und E gehören, wie man erwarten könnte, zu dem Material mit verhältnismäßig wenigen Banden in Gruppe III.

Zur übersichtlicheren Darstellung dieser Relationen werden die absoluten Gruppen-Bandenhäufigkeiten in Beziehung zur Anzahl der in einer Bandengruppe aufgrund der Wiederholungen der Extrakte verfügbaren Bandenpositionen gesetzt (Anzahl Banden in einer Gruppe dividiert durch das Produkt aus Zahl der Bandenpositionen der Gruppe und Anzahl der Wiederholungen des betr. Extraktes; in %). Aus diesen für die einzelnen Extrakte errechneten Werten wird als Durchschnitt über alle Extrakte eines Individuums dessen typischer Wert gebildet; er wird als R (Repräsentanzindex, %) bezeichnet und durch Angabe der Gruppennummer und des betreffenden Individuums in Klammern im einzelnen zugeordnet.

Beispielsweise bezeichnet $R(I/A)$ den Durchschnitt der in allen Extrakten des Elters A in Bandengruppe I gefundenen relativen Bandenhäufigkeiten, also den Repräsentanzindex der Banden 1 bis 4 für den Elter A. In dieser Form wird er für die Muster aus Banden der Qualität "2" geschrieben. Für die entsprechende Angabe aus "sicheren plus unsicheren" Banden wird er wie folgt abgekürzt: $R'(I/A)$.

32,21.1 Die Muster der Eltern

In Übersicht 22.1 sind die R und R' für die vier Bandengruppen der Isoperoxidasemuster aus Callusextrakten der sechs Elternbäume zusammengestellt und mit Rangnummern von 1 bis 6 (innerhalb jeder Bandengruppe) versehen.

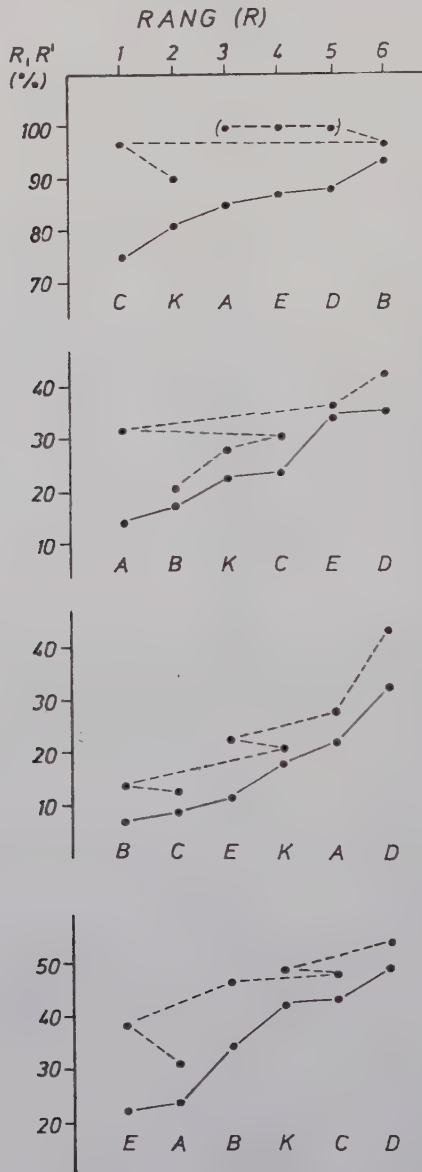
Übersicht 22.1:

Repräsentanzindices für die Bandengruppen I bis IV der Isoperoxidasemuster aus Callusextrakten der Eltern im Douglaskreuzungsmaterial. Die Tabelle enthält neben den R und R' auch die Rangzahlen für diese Werte innerhalb der Gruppen. Rangbindungen sind durch einen Stern (*) gekennzeichnet.

Banden- gruppe	I				II				III				IV			
	"2"		"1+2"		"2"		"1+2"		"2"		"1+2"		"2"		"1+2"	
	R	Rang	R'	Rang	R	Rang	R'	Rang	R	Rang	R'	Rang	R	Rang	R'	Rang
Elter: A	85,2	3	100,0	5*	14,6	1	31,9	4	22,6	5	28,4	5	24,2	2	31,6	1
B	93,7	6	96,9	3	17,5	2	20,9	1	7,6	1	14,2	2	35,1	3	47,1	3
C	74,8	1	96,6	2	24,1	4	30,9	3	9,3	2	13,2	1	44,2	5	49,2	4
D	88,4	5	100,0	5*	36,1	6	43,0	6	33,3	6	43,9	6	49,7	6	54,8	6
E	87,2	4	100,0	5*	35,3	5	37,0	5	12,3	3	22,7	4	22,6	1	38,7	2
K	81,3	2	90,1	1	23,0	3	28,4	2	18,5	4	21,4	3	42,9	4	49,4	5

Uebersicht 22.2:

Grafik nach den Werten der Uebersicht 22.1: die 6 Eltern sind, entsprechend ihren R, in aufsteigender Rangfolge von links nach rechts aufgetragen, getrennt für jede der Bandengruppen. Die Rangnummern der R' ergeben sich aus der von Rang zu Rang aufsteigenden gestrichelten Verbindungslinie. Rangbindungen sind durch Einklammern hervorgehoben. Von der Ordinate wurde nur der jeweils benötigte Abschnitt eingezeichnet.



Rangbindungen wurden nur dort vermerkt, wo zwei oder mehr R (R') auf 0,1 % genau übereinstimmen. Diese Genauigkeit ist übertrieben; eine gröbere Zusammenfassung zu Rangbindungen würde die Interpretation erleichtern und auch dem Material besser entsprechen. Es ist jedoch kaum möglich, auf rechnerischem Wege zu einer statistisch einwandfreien signifikanten Abgrenzung etwa von Elterngruppen mit annähernd gleicher Repräsentanz zu gelangen.

Übersicht 22.2 veranschaulicht die Tabellenwerte der Übersicht 22.1 grafisch. Die Spannweiten der R liegen für die Bandengruppen II bis IV etwa gleich - zwischen knapp 10 und 50 % - während die R(I)-Werte deutlich getrennt davon, über 70 %, liegen. In allen vier Gruppen zeigt sich ein deutliches Gefälle: der höchste R(I) ist ca. 1,25 mal so groß wie der niedrigste. Die größte relative Spannweite zeigen die R(III): R(III/B), der niedrigste von ihnen, beträgt weniger als ein Viertel des höchsten Gruppenwertes, R(III/D).

Die Rangnummern, die ein Individuum in den vier Bandengruppen erhält, sind nicht über die Gruppen gleich: während D mit seinen R(II bis IV) an der Spitze der Gruppenwerte liegt, wird er von R(I/B) deutlich übertroffen. In den übrigen Gruppen erreicht B jedoch nur niedrige bis mittlere R. A und E liegen in den Gruppen I und IV recht nahe beisammen, unterscheiden sich jedoch durch ihre R(II) und R(III): in der Bandengruppe II liegt E fast gleich mit D an der Spitze der relativen Häufigkeiten "sicherer" Banden, während R(II/A) der kleinste Wert der Gruppe ist. Dagegen ist R(III/A) zwar noch deutlich unter dem maximalen R(III), doch immerhin etwa doppelt so hoch wie R(III/E), der mit nur geringem Abstand von R(III/C bzw. B) ziemlich am unteren Ende der Reihe liegt. Mit seinem niedrigen R(I) ist C deutlich von B getrennt, aber, wie auch in den Gruppen II und IV, ziemlich nahe an R(K). Immerhin ist aber der relative Abstand zwischen R(I/C) und R(I/K) der höchste, der in dieser Gruppe zwischen benachbarten Repräsentanzen erreicht wird. Auch mit R(III) liegt C deutlich unter K, denn, obwohl nur ein Rang dazwischenliegt, ist R(III/C) nur etwa halb so hoch wie R(III/K). Es ist somit ohne weiteres möglich, die verschiedenen Individuen anhand ihres Rangwechsels zwischen den Gruppen individuell, und zwar qualitativ, zu charakterisieren.

Allerdings ändert sich die Rangfolge in allen Gruppen aufgrund der Unterscheidung zwischen "sicheren" und "unsicheren" Banden. Die Übersicht 22 zeigt neben den R auch die R' und die diesen entsprechenden Ranglisten. Aufsteigende Ränge der R' können in der Grafik an der aufsteigenden gestrichelten Linie abgelesen werden. Die Veränderungen in den Gruppen II bis IV schlagen sich kaum in der Streubreite nieder, während die R'(I) mit Ausnahme von R'(I/K) in die Nähe von 100 % rücken. Bei den R'(II) wird nur A völlig neu, auf den vierten Rang, eingeordnet, ohne daß die übrigen P. ihre Reihenfolge untereinander verändern - nur Verschiebungen der Abstände treten auf. In den Gruppen III und IV werden nur innerhalb je zweier Paare benachbarte Individuen ausgetauscht.

Eine Bewertung der Rangverschiebungen zwischen den R- und den R'-Reihungen erhält man, indem man die R' als Funktion der R darstellt und das Bestimmtheitsmaß r^2 aus der linearen Regression der beiden Zahlenreihen für jede Gruppe berechnet (Ansatz im Anhang):

		Bandengruppe			
		I	II	III	IV
r^2	alle P.	0,14	0,63	0,93	0,87
	ohne A		0,93		0,96

Die hohe Bestimmtheit, mit der ein linearer Zusammenhang zwischen den R' und den R der Gruppen III und IV nachgewiesen ist, läßt voraussetzen, daß keine wesentlichen Unterschiede zwischen der Interpretation aus "sicheren" und der aus "unsicheren" Mustern zu erwarten sind. Mit Ausnahme des Elters A (und der mit ihm durchgeführten Kreuzungen) kann das auch für die Bandengruppe II angenommen werden. Im Gegensatz dazu steht das Ergebnis der Gruppe I: ein linearer Zusammenhang zwischen der Beobachtung "sicherer" und "unsicherer" Banden der Gruppe I besteht sicherlich nicht, und es sind nicht etwa einzelne "Ausreißer", die einen solchen Zusammenhang stören. Es werden also Interpretationen bezüglich der Banden 1 bis 4 anders ausfallen, wenn sie aufgrund sicherer Muster getroffen werden, als wenn ihnen die R' zugrundegelegt werden.

Zur Bemessung eines denkbaren gemeinsamen Einflusses beider Eltern auf die Phänotypen der Nachkommen werden aus den R bzw. den R' der miteinander gekreuzten Eltern mittlere Repräsentanzindizes, $\bar{R}$ bzw. $\bar{R}'$, gebildet.

Die nähere Zuordnung erfolgt durch Bezeichnung der Bandengruppe und Angabe des Elternpaares, wobei die Symbole der beiden Eltern durch Semikolon getrennt sind, z.B. ist $\bar{R}'(II/C;E)$ der mittlere Repräsentanzindex der beiden Eltern C und E für die Bandengruppe II.

Die mittleren Repräsentanzindizes liegen naturgemäß dichter zusammen als die individuellen, wie aus den beiden Übersichten 23.1 und .2 deutlich wird. Ihre Rangfolgen sind rein rechnerisch durch die Ränge der individuellen R bzw. R' bedingt, was sich besonders übersichtlich u.a. beim Vergleich von $\bar{R}(II/A;B \text{ und } A;C)$ mit $\bar{R}'(II/A;B \text{ und } A;C)$ oder in den beiden Rangbindungen in $\bar{R}'(I)$ zeigt.

32,21.2 Die Muster der Nachkommen im Vergleich mit denen der Eltern

32,21.21 Die Repräsentanzindizes

Wie bereits dargestellt, erlaubt die Art der Variation der Isoperoxidasemuster keine Festlegung eines typischen Musters für die einzelnen Nachkommen im Kreuzungsmaterial, so daß es zweckmäßig ist, die Bandenrepräsentanzen für die einzelnen Vollgeschwisterfamilien als **Kollektivmerkmale** darzustellen. Dabei können die Nachkommenschaften aus reziproken Kreuzungen getrennt oder gemeinsam verarbeitet werden.

Bis zur individuellen Ebene erfolgt die Berechnung der Repräsentanz wie bei den Eltern, danach werden die Werte der Individuen einer zusammenfassenden Nachkommengruppe aufaddiert und durch ihre Anzahl dividiert, so daß als typischer Wert der Gruppe ein nach der Anzahl der Extrakte der einzelnen Nachkommen nicht gewogenes arithmetisches Mittel verwendet wird. Bei der Zusammenfassung der reziproken Nachkommenschaften zu einer Vollgeschwisterfamilie wird das Mittel aus beiden nach ihrer Individuenzahl gewogen. Die Repräsentanzen der Nachkommenschaften (Familien) werden als deren "individuelle" Merkmale mit R und R' und nicht als Mittelwerte bezeichnet. Die Zuordnung wird durch Angabe der Bandengruppe und der Kreuzung, z.B. $R(II/EC)$, vorgenommen. Bei Zusammenfassung der Reziproken zu einer Vollgeschwisterfamilie werden die beiden Elternsymbole durch ein "x" getrennt, z.B. ist $R(II/CxE)$ das nach Nachkommennzahlen gewogene arithmetische Mittel aus $R(II/CE)$ und $R(II/EC)$.

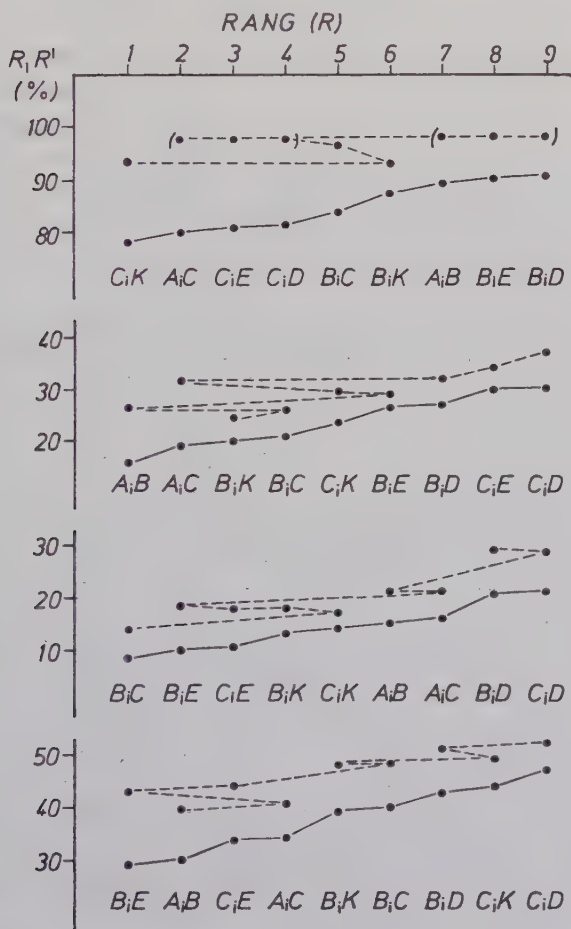
Übersicht 23.1:

Repräsentanzindex-Mittelwerte $\bar{R}$ und $\bar{R}'$ der miteinander gekreuzten Elternpaare, geordnet nach Bandengruppen I bis IV, sowie Rangzahlen dieser Werte; Rangbindungen sind durch einen Stern (*) gekennzeichnet.

Bandengruppe	I				II				III				IV			
	"2"		"1+2"		"2"		"1+2"		"2"		"1+2"		"2"		"1+2"	
Qualität	$\bar{R}$	Rang	$\bar{R}'$	Rang	$\bar{R}$	Rang	$\bar{R}'$	Rang	$\bar{R}$	Rang	$\bar{R}'$	Rang	$\bar{R}$	Rang	$\bar{R}'$	Rang
Elternpaare:																
B;C	84,2	5	96,8	3	20,8	4	25,9	2	8,4	1	13,7	1	39,7	6	48,2	5
B;E	90,4	8	98,5	8*	26,4	6	28,9	4	9,8	2	18,4	5	28,8	1	42,9	3
C;E	81,0	3	98,3	5*	29,7	8	33,9	8	10,6	3	17,9	4	33,4	3	43,9	4
A;B	89,4	7	98,5	8*	16,0	1	26,4	3	15,1	6	21,3	7	29,7	2	39,4	1
A;C	80,0	2	98,3	5*	19,3	2	31,4	6	15,9	7	20,8	6	34,2	4	40,5	2
D;B	91,0	9	98,5	8*	26,8	7	32,0	7	20,5	8	29,0	9	42,4	7	50,9	8
D;C	81,6	4	98,3	5*	30,1	9	37,0	9	21,3	9	28,5	8	46,9	9	52,0	9
K;B	87,5	6	93,5	2	20,3	3	24,6	1	13,1	4	17,8	3	39,0	5	48,3	6
K;C	78,0	1	93,4	1	23,6	5	29,6	5	13,9	5	17,3	2	43,6	8	49,3	7

Uebersicht 23.2:

Grafik nach den Werten der Uebersicht 23.1; Organisation und Signaturen wie in Ue 22.2 (die gestrichelte Verbindungslinie der $\bar{R}'$ ist aus zeichentechnischen Gründen unterbrochen, wo es die Uebersichtlichkeit erfordert).



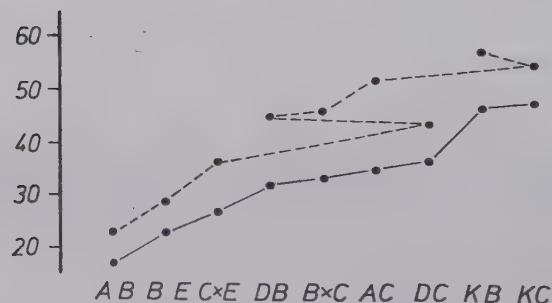
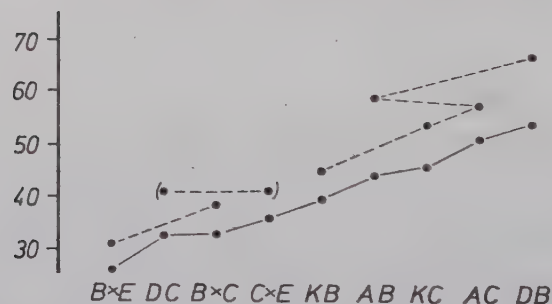
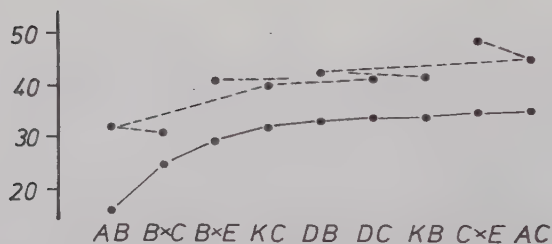
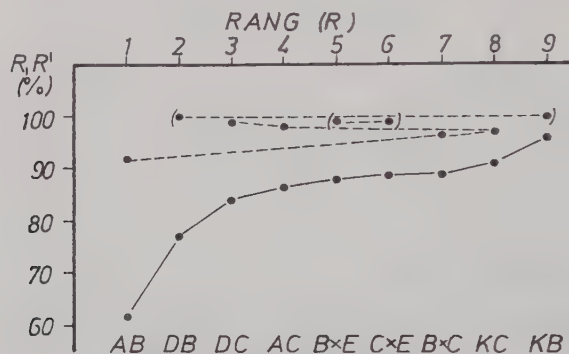
In den Übersichten 24.1 bis .3 sind die R bzw. die R' der Nachkommenschaften (Vollgeschwisterfamilien mit und ohne Zusammenfassung der reziproken) parallel zu den Übersichten 22 und 23 zusammengestellt. Übersicht 24.1 enthält für jede Bandengruppe zwei Rangordnungslisten je für R und R', da sich die Ränge mit der Zusammenfassung zu Vollgeschwisterfamilien aus den reziproken Nachkommenschaften ändern. In Übersicht 24.2 sind die R und R' der Vollgeschwisterfamilien, in Übersicht 24.3 die der Nachkommenschaften bei Trennung der Reziproken, grafisch dargestellt. Die Variation der R bzw. R' ist bei den Nachkommenschaften ähnlich denjenigen der Eltern, nicht denjenigen der Elternmittel, welche bedeutend weniger streuen. Auch hier überschneiden sich die Streubereiche der Repräsentanzen in den Gruppen II bis IV und sind gut gegenüber denen der Gruppe I abgesetzt.

Wie bei den Eltern und den Elternmittelwerten nehmen die R jeder Familie in den vier Bandengruppen unterschiedliche Ränge ein, so daß sie nach ihrem Rangplatzwechsel individuell unterschieden werden können. Den Rangplatzwechsel kann man übersichtlich als "Rangvektor", VR bzw. VR', darstellen, indem man die Ränge der Repräsentanzindizes einer Kreuzung (für Elternmittel oder Nachkommenschaft) für die aufeinanderfolgenden Bandengruppen nacheinander anordnet. Man erhält - wie aus den Übersichten 22 bis 24 (jeweils .1) in den Zeilen abgelesen werden kann - z.B. für $\overline{VR}(A;B)$ die Ziffern (7.1.6.2) und für $VR(AB)$ die Ziffern (1.1.6.1). Bei der Kreuzung der Eltern A und B unterscheiden sich also die Rangfolge der Elternmittel und die der Nachkommenschaft nur in der Bandengruppe I, den übrigen Unterschieden ist kein offensichtliches Gewicht beizumessen. Vergleicht man die entsprechenden R'-Rangfolgen, also $\overline{VR}'(A;B) = (8.3.7.1)$ und $VR'(AB) = (1.2.8.1)$, so zeigt sich ein Unterschied, der ebenso zu bewerten ist wie der der VR: nur der Rang von $\overline{R}'(I/A;B)$ liegt deutlich anders als der von $R'(I/AB)$; in den übrigen R' sind die Nachkommenschaften gleich bewertet wie die Elternmittel.

Völlig anders liegen die Unterschiede bei der Kreuzung DC: hier ist mit $\overline{VR}(D;C) = (4.9.9.9)$ und $VR(DC) = (3.6.2.7)$ der Unterschied in der Rangbewertung der Gruppe I gering, in den

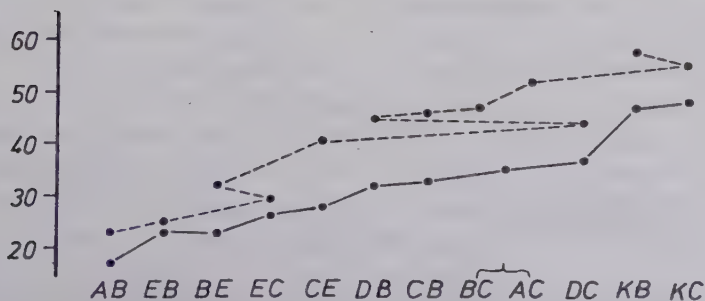
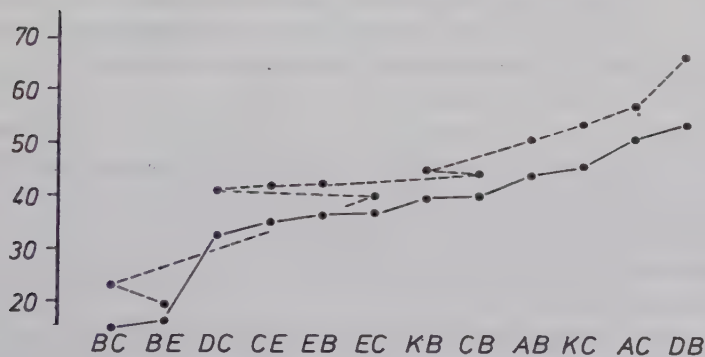
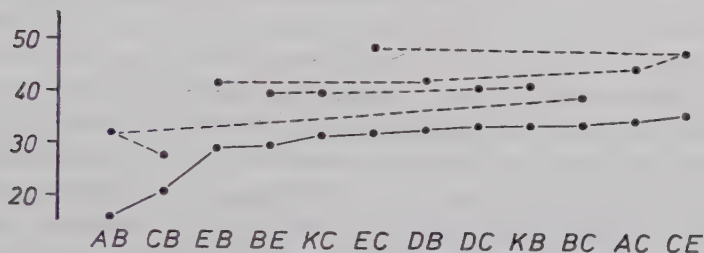
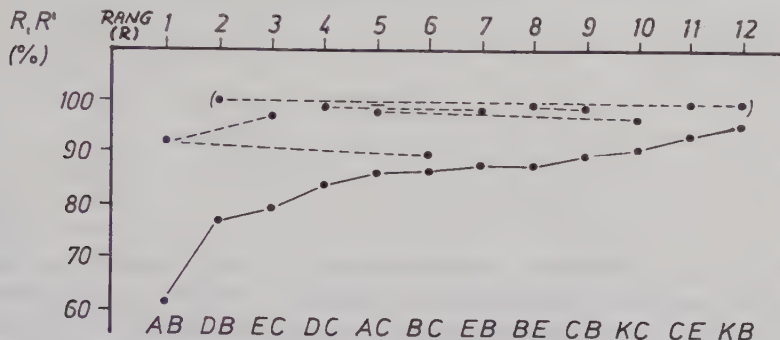
Uebersicht 24.2:

Grafik nach den Werten der Ue 24.1: Repräsentanzindizes R und R' der Nachkommenschaften (Vollgeschwisterfamilien). Organisation und Signaturen wie in Ue 23.2



Uebersicht 24.3:

Grafik nach den Werten der Ue 24.1: Repräsentanzindizes der Nachkommenschaften (reziproke getrennt). Organisation und Signaturen wie in Ue 23.2



übrigen Gruppen höher. Dieselbe Aussage ergibt sich aus $\bar{V}R'(D;C)=(5.9.8.9)$ und $VR'(DC)=(5.4. 3,5 .4)$. Für die Kreuzung der Eltern B und C erhält man dagegen eine gute Übereinstimmung zwischen $\bar{V}R(B;C)=(5.4.1.6)$ und $VR(BxC)=(7.2.3.5)$, die bei Berücksichtigung der unsicheren Banden noch erhöht wird: $\bar{V}R'(B;C)=(3.2.1.5)$ und $VR'(BxC)=(2.1.2.6)$. Trennt man allerdings die Vollgeschwisterfamilie BxC in die beiden reziproken Anteile auf, dann erhält man zwischen diesen und von diesen gegenüber dem Elternmittel markante Unterschiede: $VR(BC)=(6.10.1. 8,5)$ und $VR(CB)=(9.2.8.7)$, bzw. $VR'(BC)=(1.3. 2.9)$ und $VR'(CB)=(8.1.7.8)$.

Es ist damit deutlich, daß die VR und VR' der Nachkommenschaften in mehreren Fällen anders liegen als die der Elternmittel, und daß die reziproken Nachkommenschaften desselben Elternpaares ebenfalls nicht dieselben Rangvektoren der Bandengruppen-Repräsentanzen erbracht haben, und daß diese auch nicht im selben Sinne von denen der Elternmittelwerte abweichen. Die Kreuzung der Eltern B und D ergibt Werte, bei denen ein deutlicher Unterschied zwischen der Aussage aus "sicheren" und der aus "unsicheren" Mustern sichtbar wird: zwischen $\bar{V}R(B;D)=(9.7.8.7)$ und $\bar{V}R'(B;D)=(8.7.9.8)$ besteht fast kein Unterschied, und $VR'(DB)=(8,5 .7.9.5)$ liegt nur mit R' (IV/DB) deutlich niedriger als das entsprechende Elternmittel, wogegen $VR(DB)=(2. 5.9.4)$ auch in den Gruppen I und II merkbliche Rangunterschiede gegenüber den entsprechenden Elternmitteln zeigt.

Eine Bewertung des Unterschiedes zwischen den beiden Aussagen aus R bzw. aus R' kann wieder aufgrund der Regression für das Material im Ganzen vorgenommen werden: in der folgenden Liste sind die Werte für das Bestimmtheitsmaß r^2 für den linearen Zusammenhang zwischen den R und den R' der Nachkommenschaften zusammengestellt:

r^2			Bandengruppe			
			I	II	III	IV
	Reziproke getrennt	alle	0,23	0,66	0,95	0,87
		ohne BC u. DB	0,85			
		ohne BC, CB, EC		0,79		
	Voll- geschwister zusammengefaßt	alle	0,48	0,72	0,94	0,91
		ohne DB	0,76			
		ohne DB u. BxC	0,84			
		ohne BxC, CxE		0,90		

Wie bei den Eltern ist die Bestimmtheit eines linearen Zusammenhanges zwischen den R und den R' in den Gruppen III und IV für alle Nachkommenschaften, in Gruppe II für einen großen Teil, hoch. Anders als bei den Eltern erreicht die Mehrzahl der Nachkommenschaften aber auch in Gruppe I ein hohes r^2 . Gleichgültig, ob die Vollgeschwisterfamilien zusammengefaßt oder in reziproke getrennt beobachtet werden, sind es dieselben "Ausreißer", die den Zusammenhang stören. Diese gehen nicht aus Kreuzungen mit dem Elter A, durch dessen Auslassung die r^2 für die Gruppen II und IV wesentlich verbessert werden konnten, hervor. Es kann aus den Ergebnissen also nicht pauschal entnommen werden, ob die Interpretation aus "sicheren" Banden ein im Wesentlichen gleiches Ergebnis bringen wird wie die Interpretation aus "sicheren+unsicheren" Banden.

32,21.22 Die Repräsentanzquotienten

Die Beurteilung der Unterschiedlichkeit oder Übereinstimmung zwischen den Eltern und den Nachkommenschaften hinsichtlich ihrer R bzw. R' alleine aufgrund der Rangvektoren ist dadurch problematisch, daß die Abstände zwischen den einzelnen Repräsentanzindices sehr verschieden und zum Teil sehr klein sind, so daß ein Maß für das Gewicht der Ränge kaum definiert werden kann. Es soll deshalb versucht werden, einen Vergleich zwischen den Nachkommenschaften und ihren Eltern unmittelbar zu ziehen. Dazu wird der Repräsentanzquotient Q aus dem R einer Nachkommengruppe, geteilt durch das Repräsentanzmittel der zugehörigen Eltern, gebildet.

Ein $Q = 1$ errechnet sich, wenn die verglichenen relativen Bandenhäufigkeiten gleich hoch sind. Der Repräsentanzquotient wird auf die gleiche Art näher bezeichnet wie die Repräsentanzindices, z.B. ist $Q(I/EB : B;E) = R(I/EB) : R(I/B;E)$, es wird hier also die Nachkommenschaft des $R_1=E$ mal $R_2=B$ mit dem mittleren Repräsentanzindex der beiden Eltern B und E verglichen.

Die Übersicht 25 (.10 tabellarisch, .11 bis .14 grafisch) enthält die Zusammenstellung der Repräsentanzquotienten Q und Q' samt ihren Rangordnungen für den Vergleich der Nachkommenschaften (Vollgeschwisterfamilien) mit den Elternmittelwerten, gliedert nach den vier Bandengruppen. Wie bei den Repräsentanzindices zeigt sich auch hier in allen vier Bandengruppen ein Gefälle zwischen zwei extremen Q der Gruppe, entlang dem die verschiedenen Kreuzungen mit wechselnden Rangvektoren angeordnet sind. Das geringste Gefälle zeigen die Q'(I) mit Abweichungen

der extremen Ränge von $-0,06$ bis $+0,07$ gegenüber $Q=1$, die höchste Spannweite zeigen die Werte der Gruppe III. Dabei ist es nicht so, daß im Schnitt die Q der vier Bandengruppen in der Nähe von $Q=1$ liegen, sondern diesen Wert erreicht - zusammengefaßt über alle Kreuzungen - ziemlich genau die Gruppe I; die Gruppe IV liegt ca. 10% darunter, wogegen die Banden von Position 5 bis Position 23 im Ganzen in den Nachkommen sehr viel häufiger beobachtet werden als in den Eltern: sowohl bei den "sicheren" wie bei den "unsicheren" Mustern geht kein einziger Wert unter 1, und die fünf höchsten Ränge liegen in der Bandengruppe III mehr als dreimal so hoch wie das entsprechende Elternmittel.

Die je beiden Kreuzungen mit einem gemeinsamen Elter - in der Grafik durch besondere Markierung hervorgehoben - liegen zwar in einer Reihe von Fällen, aber nicht durchgehend über alle Bandengruppen, in benachbarten Rängen oder bei gering unterschiedenen Q . Beim Uebergang von Q zu Q' werden die Ränge ihrer Repräsentanzquotienten nicht vertauscht, sofern der gemeinsame Elter P.1 ist (mit Ausnahme der $Q \rightarrow Q'$ (I/D P.2) und $Q \rightarrow Q'$ (I/K P.2) und $Q \rightarrow Q'$ (IV/D P.2), bei denen jedoch die Unterschiede der Q und/oder Q' so gering sind, daß die Bedeutung der Rangplätze ohnehin kaum bewertet werden kann). In einigen Fällen werden aber die Werte beider Kreuzungen mit demselben P.1 stark verschoben, und zwar im allgemeinen in dieselbe Richtung.

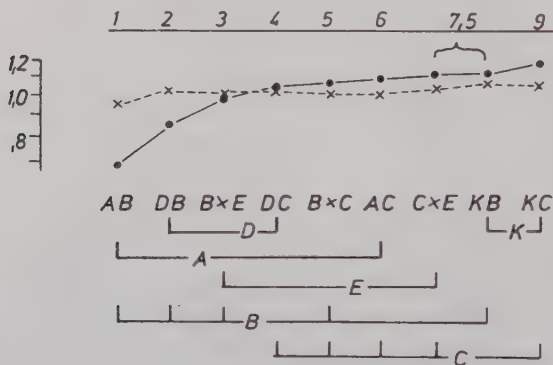
Trennt man das Material weiter für die Werte der reziproken Kreuzungen auf, dann können auch die Kreuzungen mit den gemeinsamen Mutterbäumen B, C und E in diese Betrachtung einbezogen werden (Übersichten 25.20 bis 25.24).

So gering auch - verglichen mit den anderen Bandengruppen - die Streuung der Q in Bandengruppe I ist, fällt doch auf, daß - außer EC, dessen Q aber von den übrigen Kreuzungen am nächsten bei 1 liegt - alle Nachkommen aus Kreuzungen mit dem Elter C eine höhere Repräsentanz haben als die zugehörigen Eltern im Mittel; im Gegensatz dazu stehen die Q aller Kreuzungen des Elters B als P.2 mit den übrigen Partnern: zwar liegen sie nicht alle unter $Q=1$, doch sind sie stets niedriger als die der Kreuzungen des jeweiligen Partners mit einem anderen P.2.

Uebersicht 25.11 bis .14:

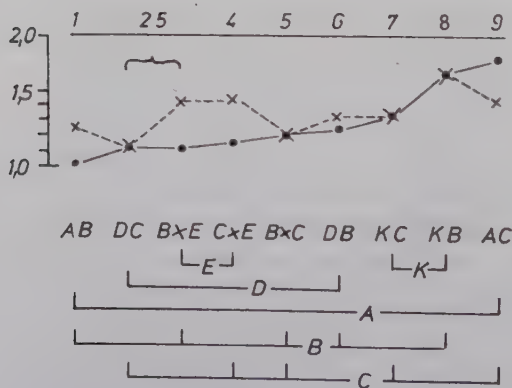
Grafik nach den Werten der Ue 25.10; Organisation und Signaturen wie in Ue 22.2, jedoch logarithmische Teilung der Ordinate; außerdem wurden hier die Q' nicht ihren Rängen nach verbunden, weil sie z.T. so dicht aufeinanderfolgen, daß dabei die Lesbarkeit der Grafiken verlorenginge. Unter den Einzelgrafiken sind die Kreuzungen mit gemeinsamen Eltern besonders markiert

Uebersicht 25.11: Darstellung der Q(I/F1 : P.1;P.2) u. entspr. Q'
Darstellung der Q(I/F1 : P.1;P.2) und entspr. Q'



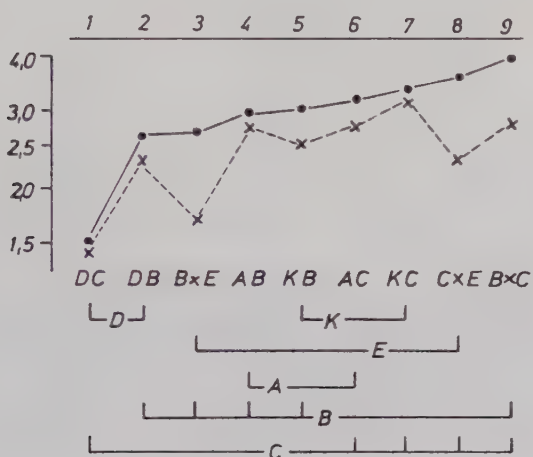
Uebersicht 25.12:

Darstellung der Q(II/F1 : P.1;P.2) und entspr. Q'



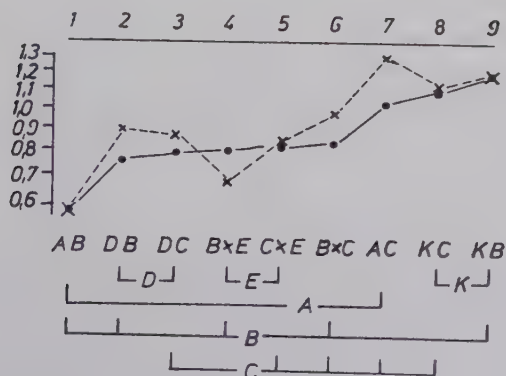
Uebersicht 25.13:

Darstellung der $Q(III/F1 : P.1;P.2)$ und entspr. Q'



Uebersicht 25.14:

Darstellung der $Q(IV/F1 : P.1;P.2)$ und entspr. Q'



Die Ränge der Q(I) der Kreuzungen der beiden Eltern B bzw. C mit den übrigen Partnern liegen also ausnahmslos umgekehrt zueinander wie die Ränge der R(I/B) bzw. R(I/C). Parallel zu diesem Ergebnis liegen die folgenden Beobachtungen:

$R(I/A) > R(I/K)$	und $Q(I/A \text{ P.2}) < Q(I/K \text{ P.2})$	*)
$R(I/E) > \text{"-}$	und $Q(I/E \text{ P.2}) < \text{"-}$	
$R(I/D) > \text{"-}$	und $Q(I/D \text{ P.2}) < \text{"-}$	
$R(I/B) > \text{"-}$	und $Q(I/B \text{ P.2}) < \text{"-}$	

Es haben also auch alle Nachkommen aus Kreuzungen mit denjenigen P.1, deren Bandengruppe I höher repräsentiert ist als bei K, im Verhältnis zu ihrem Elternmittelwert eine niedrigere Bandenrepräsentanz als die beiden F1 aus Kreuzungen mit K gezeigt.

Vergleicht man die Kreuzungen des P.1 = C mit denen der Individuen B, D und E als Mutterbäume, dann zeigt sich dieselbe Beziehung: diejenigen Mutterbäume, deren R(I) um wenigstens drei Ränge höher eingestuft wurden als R(I/C), erbringen mit allen Nachkommenschaften niedrigere Q(I) als die Kreuzungen mit P.1 = C.

In der zuerst aufgeführten Vergleichsserie der Kreuzungen mit P.2 = B gegenüber denen mit P.2 = C ist $Q(I/F1 : P.1; P.2)$ stets umso höher, je niedriger R(I/P.2) ist, in den beiden weiteren Vergleichsserien (K bzw. C als P.1), je niedriger R(I/P.1) ist. Diese drei Vergleichsserien sind im folgenden nochmals schematisch dargestellt (dabei deuten die Verbindungslinien die Vergleiche an, und nicht - wie im eingangs gezeigten Kreuzungsschema - die durchgeführten Kreuzungen. Das Größerzeichen ist in die Vergleichslinie eingesetzt, um anzudeuten, in welcher der beiden verglichenen Kreuzungen bzw. Kreuzungsserien ein größeres Q(I) bei kleinerem R(I) des betr. Elters - dieser gekennzeichnet als Vater oder Mutter - beobachtet wurde.).

(Vergleichsschemata s.S. 86f.)

+) abgekürzte Schreibweise, hier für $Q(I/A \text{ P.2} : A; P.2)$ usw.

Uebersicht 25.20:

Repräsentanzquotienten Q und Q' und ihre Ränge (Bindungen durch Stern * gekennzeichnet); Vergleich der Vollgeschwisterfamilien bei Trennung der reziproken mit zugehörigem Elterrmittel. Isoperoxidase-muster aus Callusextrakten des Douglasien-Kreuzungsmaterials. (Die hier nicht eingetragenen Q und Q' sind identisch mit den Werten in Ue 25.10)

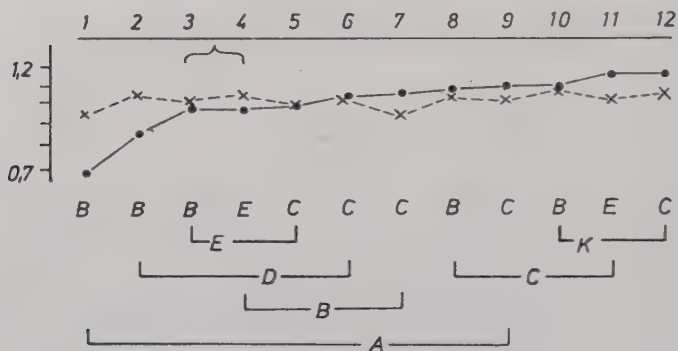
Banden- gruppe	I				II				III				IV			
	"2"		"1+2"		"2"		"1+2"		"2"		"1+2"		"2"		"1+2"	
	Q	Rang	Q'	Rang	Q	Rang	Q'	Rang	Q	Rang	Q'	Rang	Q	Rang	Q'	Rang
Qualität	1,04	7	0,93	1	1,65	10	1,53	11	1,76	3	1,69	3	0,89	9	0,97	9
Vergleich	1,07	8	1,02	9*	1,01	1	1,07	1	4,79	12	3,26	12	0,82	7	0,95	8
R : R'																
(BC: B;C)																
(CB: B;C)																
(DE: B;E)	0,97	3,5*	1,01	6,5*	1,13	6	1,39	6	1,66	2	1,05	1	0,80	5,5*	0,75	4
(EB: B;E)	0,97	3,5*	1,00	4,5*	1,11	4	1,46	10	3,71	11	2,32	6	0,80	5,5*	0,59	2
(CE: C;E)	1,16	11	1,02	9*	1,21	7	1,42	7	3,32	9	2,35	7	0,83	8	0,92	7
(EC: C;E)	0,93	5	0,99	3	1,09	3	1,45	9	3,48	10	2,23	4	0,79	4	0,67	3
(AB: A;B)		1		2		2		3		5		9,5*		1		1
(AC: A;C)		9		4,5*		12		8		7		9,5*		10		12
(DB: B;D)		2		9*		8		4		4		5		2		6
(DC: C;D)		6		6,5*		5		2		1		2		3		5
(KB: B;K)		10		12		11		12		6		8		12		11
(KC: C;K)		12		11		9		5		8		11		11		10

Uebersicht 25.21 bis .24:

Grafik nach den Werten der Ue 25.20; Organisation und Signaturen wie in Ue 25.11 bis .14. Die Bezeichnung der Kreuzungen ist geteilt: in der obersten Reihe stehen die P.2, darunter mit Hinweisklammern die P.1. (Bei Q(I) kommen z.B. der Rangfolge nach die folgenden Kreuzungen hintereinander: AB DB EB BE EC usw.)

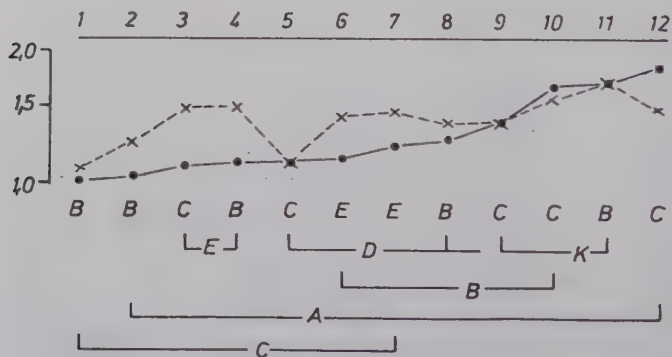
Uebersicht 25.21:

Darstellung der Q(I/F1 : P.1;P.2) und entspr. Q'



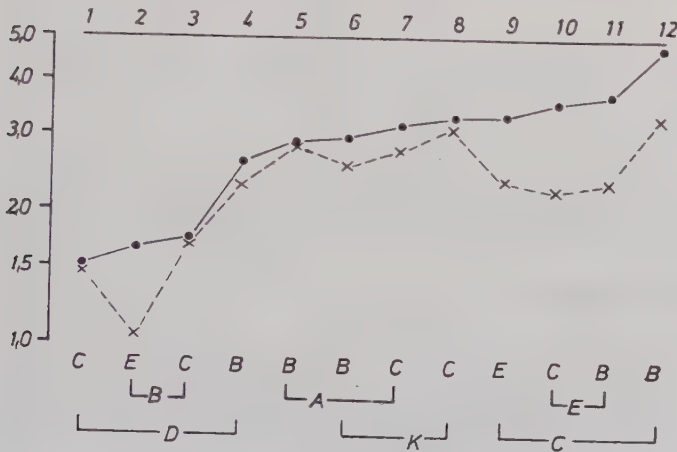
Uebersicht 25.22:

Darstellung der Q(II/F1 : P.1;P.2) und entspr. Q'



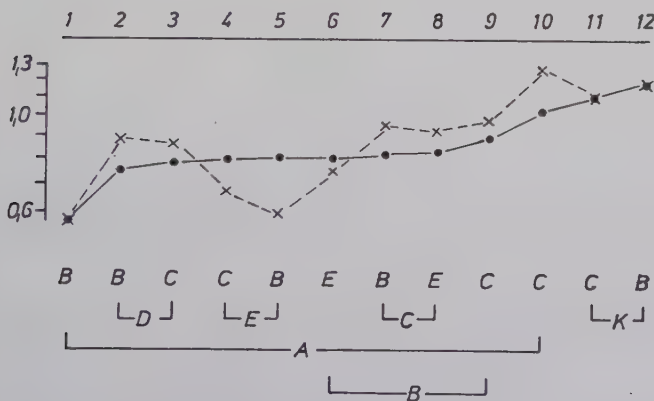
Uebersicht 25.23:

Darstellung der Q(III/F1 : P.1;P.2) und entspr. Q'

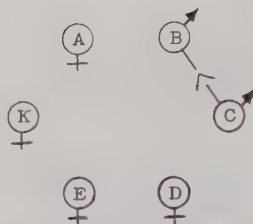


Uebersicht 25.24:

Darstellung der Q(IV/F1 : P.1;P.2) und entspr. Q'

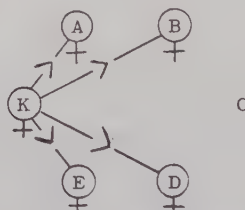


1. Vergleichsschema:



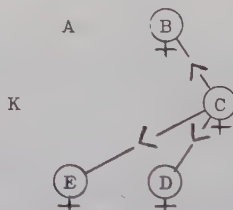
Das heißt: jede Kreuzung eines der bezeichneten P.1, in der P.2 = C, hat - bei $R(I/C) < R(I/B)$ - einen größeren Repräsentanzquotienten als jede desselben P.1 mit P.2 = B

2. Vergleichsschema:



Das heißt: unabhängig vom P.2 haben beide Kreuzungen des P.1 = K einen größeren Q(I) als alle Kreuzungen der übrigen, als solche gekennzeichneten P.1, deren R(I) größer sind als R(I/K)

3. Vergleichsschema:



Das heißt: unabhängig vom P.2 haben beide Kreuzungen des P.1 = C einen größeren Q(I) als alle Kreuzungen der übrigen, als solche gekennzeichneten P.1, deren R(I) um drei oder mehr Ränge über $R(I/C)$ eingestuft sind.

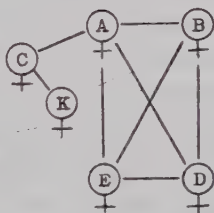
Bei den übrigen Vergleichen, dargestellt im 4. Vergleichsschema, zeigt sich eine derartige systematische Beziehung nicht. Hier verhalten sich die Mutterbäume im Vergleich miteinander uneinheitlich bezüglich des Q(I) ihrer je beiden Kreuzungen mit verschiedenen P.2. Zwar ist auch hier wieder bei P.2 = E

der Q derjenigen Kreuzung höher, deren $R(I/P.1)$ niedriger ist, nämlich: $Q(I/CE:C;E) > Q(I/BE:B;E)$, und die Beziehung ist auch im Vergleich der Vaterbäume der jeweils anderen F1 desselben P.1 erhalten:

$$\begin{array}{ll} R(I/E) < R(I/B) & \text{und} \quad Q(I/CE:C;E) > Q(I/CB:B;C) \\ R(I/C) < R(I/E) & \text{und} \quad Q(I/BC:B;C) > Q(I/BE:B;E) \end{array}$$

doch gilt sie immer höchstens beim Vergleich eines der beiden F1 eines P.1 mit den beiden F1 eines anderen P.1, wenigstens bei der zweiten F1 des einen P.1 kehrt sich die Beziehung um. Es treten also hier Vergleiche auf, bei denen der kleinere $Q(I/F1: P.1; P.2)$ demjenigen P.1 zugehört, dessen $R(I)$ auch der kleinere ist.

4. Vergleichsschema:



(Erläuterungen im Text)

Im Gegensatz zum Vergleich der Repräsentanzquotienten bei zusammengefaßten Vollgeschwisterfamilien zeigt sich hier beim Übergang $Q \rightarrow Q'$ eine Verschiebung der Ränge, durch die die Beziehungen völlig umgestellt werden. Ein systematischer Zusammenhang wie in der dargestellten Form ist in den Q' nicht mehr zu beschreiben, zumal wegen der geringen Streuung der Q' und wegen der Zusammenfassung von sieben $Q'(I/F1)$ bzw. sechs $R(I/P.1; P.2)$ in Rangbindungen. Höchstens ist festzustellen, daß die beiden Kreuzungen mit $P.1 = K$ - wenn auch mit geringem Abstand - an der Spitze der Q' liegen, wobei $Q'(I/K)$ der kleinste Wert der Gruppe ist, so daß hier die Beziehung dieselbe ist wie bei den im 2. Vergleichsschema zusammengefaßten Vergleichen.

Die anderen Bandengruppen bringen eine deutlich stärkere Abstufung der Q und auch der Q' , doch ist dort eine derartige systematische Ordnung wie in den $Q(I)$ im Vergleich zu den R der Eltern nicht zu erkennen. In vielen Fällen liegen die Q der je

beiden Vollgeschwisterfamilien aus Kreuzungen mit demselben P.1 recht nahe beieinander, während andererseits in jeder Bandengruppe wenigstens eines der drei Paare reziproker Nachkommenschaften hinsichtlich der Repräsentanzquotienten bzw. deren Rängen weit auseinanderfällt. Auch dieser Unterschied ist nicht für jedes der drei reziprok gekreuzten Elternpaare bzw. die reziproken Nachkommen konstant über die vier Bandengruppen, die sich also auch hier wieder ebenso unabhängig voneinander verhalten wie hinsichtlich der Rangvektoren in den anderen Größen.

32,22. Interpretation der Muster

Wie bei den Nadelextrakten (vgl. Abschnitt 32,12.) zeigen sich auch hier Anhaltspunkte für eine qualitative Vererbung von Teilen der Isoperoxidasemuster:

- 1) Die vier bereits optisch unterscheidbaren Bandengruppen unterscheiden sich auch - voneinander unabhängig - bei verschiedenen (Eltern-)Individuen sowie genetisch zusammengehörigen (Nachkommen-)Individuengruppen durch ihre Bandenrepräsentanz. Das kommt in den wechselnden Rangvektoren, die den Individuen bzw. Individuengruppen zugeordnet werden, zum Ausdruck.
- 2) Für diese Rangordnungen lassen sich in einigen Fällen systematische Zusammenhänge zwischen den Repräsentanzindizes der Eltern und denen der zugehörigen Nachkommenschaften zeigen.
- 3) Diese systematischen Zusammenhänge sind nicht so gelagert, daß die Bandenrepräsentanz einer Nachkommengruppe mit gemeinsamen Eltern proportional der des Elternmittels wäre. Das kommt in den Abweichungen der einzelnen Repräsentanzquotienten vom Wert 1 zum Ausdruck.

Die quantitative Merkmalsausprägung bzw. -definition bei den Isoperoxidasen aus Callusextrakten hätte erwarten lassen können, daß die Bandenrepräsentanzen der Gruppe sich wie "multifaktorielle" Merkmale rein "additiv" vererben, d.h. daß eine Nachkommenschaft umso mehr Banden in einer Gruppe zeigt, je mehr Banden beim

zugehörigen Elternpaar präsent sind. Dafür, daß diese Erwartung nicht erfüllt ist, können - bei Berücksichtigung der Variation im vorliegenden Material - vor allem zwei Gründe in Betracht kommen:

- a) der quantitative Zusammenhang sei durch grobe Störungen der Reproduktion der Phänotypen überlagert
- b) ein quantitativer Zusammenhang dieser einfachen Art besteht nicht; es werden - neben oder anstatt - der einfachen Addition elterlicher Komponenten weitere Einflüsse wirksam, die auf das "Freiwerden verdeckter Eigenschaften" durch neue Allelenkombination zurückzuführen sind.

Im Falle der Begründung nach a) wäre eine regellose Rangfolge der Q zu erwarten. Für die Interpretation nach b) sprechen die oben kurz beschriebenen systematischen Zusammenhänge: dafür, daß $P.2 \approx C$, trotz seines niedrigen $R(I/C)$, in allen 5 Kreuzungen höhere Repräsentanzindizes in Gruppe I bei seinen Nachkommen "bewirkt" als der Elter B in den Kreuzungen mit jeweils demselben Partner, ist eine nichtzufällsmäßige Begründung zu erwarten.

Um die genetische Bedingtheit der Repräsentanzausprägungen schärfer zu begründen, wäre eine Reihe spekulativer Prämissen notwendig, für die jedoch aus dem Material selbst keine genügenden Hinweise gefunden werden können. Es soll nur ganz kurz am Beispiel der Nadelextrakt-Zymogramme, für deren Banden ja zum Teil Aufspaltungsverhältnisse gezeigt werden konnten, dargestellt werden, daß bei entsprechender Verarbeitung eine systematische Anordnung der Q zu beobachten ist. In der folgenden Liste sind die R, $\bar{R}$ und Q der Eltern und Nachkommen bzw. Kreuzungen auf dieselbe Art berechnet wie für die Callusextrakte (wobei eine Mittelbildung über verschiedene Nadelextrakte entfiel); die Banden a bis i wurden zu einer Gruppe zusammengefaßt. Ein Unterschied nach Bandenqualitäten wurde nicht berücksichtigt, das Material wurde unverändert (ohne Rücksicht auf die Interpretation) verarbeitet.

Ohne die in Abschnitt 32,12. gegebene Analyse der denkbaren Gen- bzw. Allelenzuordnung der Nadelperoxidasebanden wäre es aus der dargestellten Liste der Repräsentanzindizes bzw. -quotienten

	BC	CB	BE	EB	CE	EC	AB	AC	DB	DC	KB	KC
R %	61		44		61		28	44	61	78	39	56
Ränge	7*		3,5*		7*		1	3,5*	7*	9	2	5
R(F1) %	69	52	44	44	56	53	56	52	53	42	54	39
Ränge	12	5,5*	3,5*	3,5*	10,5*	8	10,5*	5,5*	7	2	9	1
Qx100	114	85	100	100	91	87	200	118	86	54	139	70
Ränge	9	3	7,5*	7,5*	6	5	12	10	4	1	11	2

nicht möglich, die offensichtliche systematische Anordnung der Q-Ränge im Sinne dieser Zuordnung aufzulösen. Es wäre die Qualität der Banden als Klonmerkmale aus dieser Anordnung nicht überprüfbar, obwohl sie Ausdruck der gesetzmäßigen Vererbung eines großen Teils von ihnen ist. Das liegt auch ohne weitere Analyse auf der Hand, denn die Aufspaltungszahlen der verschiedenen Produkte zusammengefaßter Gene verrechnen sich höchst kompliziert, wenn auch systematisch, zumal nicht feststeht, daß stets die Produkte aller Allele eines Genorts in derselben Gruppe zusammengefaßt wurden, und zumal in den Nachkommenschaften Stichproben zusammengefaßt worden sind, innerhalb welcher die experimentellen Aufspaltungszahlen in unbekannter und nach Genort und Stichprobe verschiedener Weise von den theoretischen abweichen.

Aus demselben Grund ist es natürlich ohne grundsätzliche Bedeutung, daß die besonders auffälligen Verhältnisse zwischen den Eltern B und C und den Nachkommenschaften aus allen ihren Kreuzungen gerade spiegelbildlich zu denen der Bandengruppe I der Callus-Zymogramme liegen; es ist ja keinesfalls zu erwarten, daß in beiden Gruppenzusammenfassungen die Produkte desselben Genomausschnitts zusammengefaßt worden sind.

Ein Hinweis, daß die systematische Anordnung Ausdruck für die gesetzmäßige Vererbung zumindest eines Teils der Banden ist, kann noch darin gesehen werden, daß es besonders die Eltern B und C, die ja mit der größten Zahl an Wiederholungen am Kreuzungsmaterial beteiligt waren, sind, die die übersichtlichsten Verhältnisse bezüglich so eines Systems zeigen. Für ihr Verhältnis in der Bandengruppe I könnte man als Interpretationsmöglichkeit vorschlagen, anzunehmen, daß C hinsichtlich derjenigen genetischen Ursachen, die das Erscheinen von Banden der Positionen 1 bis 4 unterdrücken (die Repräsentanz vermindern), in einem

hohen Maße homozygot ist. Dabei sollen diese genetischen Ursachen Gruppen zusammenwirkender rezessiver Allele sein. Außerdem sollen diese rezessiven Komponenten in ihrer Gesamtheit eine verhältnismäßig geringe Ähnlichkeit mit den entsprechenden Komponenten der übrigen Eltern haben. Dagegen soll B, bei dem höhere Heterozygotie und damit geringere Einschränkung der Bandenpräsenz in Gruppe I angenommen wird, in seinen einschränkenden, rezessiven allelischen Komponenten, in höherem Maße mit den übrigen Eltern übereinstimmen. Die Ranglage der Q(I/BxC) etwa in der Mitte des Streufeldes würde einer solchen Spekulation durchaus entgegenkommen. Wollte man diese Interpretation aus dem übrigen Material weiter stützen, dann müßte eine ganze Reihe ähnlicher Hilfsannahmen getroffen werden, die grundsätzlich denkbar, aus dem Material aber nicht zwingend zu fordern sind. Zwar ließen sich diese Annahmen eventuell wieder durch gegenseitige Bestätigung zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Kreuzungen des zusammenhängenden Systems stützen, doch blieben dann immer noch zuviele andere denkbare Möglichkeiten offen.

In keinem Falle würde dieser Versuch einer genetischen Interpretation der Bandenrepräsentanzen zu einer aus dem Kreuzungsmaterial genetisch hinreichend begründeten Identifizierung von Markern in den Isoperoxidasemustern der Callusextrakte führen, die sinnvoll zur Kennzeichnung der Klone verwendet werden könnte. Es liegt auf der Hand, daß die genannten Spekulationen auch nicht hinreichend Gewicht besitzen, um die Bedeutung der Rangverschiebungen beim Übergang $Q \rightarrow Q'$ zu werten. Damit bleiben also die Rangvektoren einzige Möglichkeit der qualitativen Unterscheidung von Individuen oder genetisch zusammengehörigen Individuengruppen, doch bleibt die Frage der Bedeutung der "unsicheren" Banden offen.

Bisher nicht berücksichtigt wurden zwei besonders auffällige Beobachtungen, die die angedeuteten qualitativ genetischen Anteile an der Vererbung der Peroxidasenvariation überlagern:

1. Das Auseinanderweichen der Bandengruppenrepräsentanzen reziproker Nachkommen
2. Die beträchtliche Überschreitung der Repräsentanzindices der Eltern durch die der Nachkommenschaften

Weder die optische Erscheinung noch die Ergebnisse der Interpretation der Peroxidasephänotypen aus Callusextrakten ergaben hinreichend Anhaltspunkte für unmittelbare Rückschlüsse von Isoperoxidasebanden auf spezielle Protein-Strukturgene. Die Annahme plasmatischer Einflüsse auf dem Wege von der Proteinsynthese bis hin zur Bande im Polyacrylamidgel, die sich sowohl auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften hypothetischer "nativer" als auch letztenendes auf die hypothetischer "artefizieller" Isoenzyme (hier reduziert auf die Wanderungseigenschaften in der Elektrophorese), die im Extrakt vorliegen, auswirken können, liegt damit ohnehin im Bereich der möglichen Erwartungen. Wenn zudem Unterschiede zwischen reziproken Nachkommenschaften beobachtet werden, wird diese Erwartung verstärkt, weil damit extrakaryotische Einflüsse des Mutterbaums auf die Nachkommen sichtbar gemacht würden. Die beobachteten Unterschiede wechseln allerdings nach Ausmaß und Richtung zwischen den Paaren reziproker Nachkommenschaften und zwischen den Bandengruppen so beträchtlich und unsystematisch, daß ihre Analyse aus dem vorliegenden Material nicht versucht wird. Bei der erwarteten Kompliziertheit des Zusammenspiels mitwirkender Faktoren erscheint das Material mit nur 3 reziprok gekreuzten Elternindividuen nicht ausreichend. Zudem fällt auf, daß auch im Beispiel der Nadelextrakt-Phänotypen die R(BC) und R(CB) sich ganz beträchtlich unterscheiden, ohne daß dadurch die Bestätigung der genetischen Hypothesen zu irgendeiner der interpretierten Banden beeinträchtigt worden wäre, und die Interpretationen bauten auf rein karyotischer Mendelgenetik auf. (Die Ergebnisse des Abschnitts 32,1 zeigen, daß auch für die dort so genannten "schwachen" Banden ein "maternaler" Effekt, der sich in der Repräsentanzindexberechnung niederschlagen könnte, nicht nachweisbar ist.)

Wesentlich markanter und eindeutiger ist die zweite der genannten Beobachtungen, durch die sich die Bandengruppe II und III in gleicher Weise aber in unterschiedlichem Maße von den übrigen Bandengruppen (auch des Nadelmaterials) unterscheiden. Für die Beobachtung, daß alle Q und Q' (II und III) größer als 1 sind, sollen zwei Interpretationsvorschläge angeboten werden:

- a) es kann eine quantitative Merkmalsverstärkung im Sinne eines Heterosiseffekts unterstellt werden
- b) Ursache könnte eine zwischen den verglichenen Individuengruppen (ca. 65- bis 90-j. Eltern und ca. 15-j. Nachkommen) unterschiedliche Genpräsenz aufgrund des Lebensalters bzw. des ontogenetischen Entwicklungszustandes sein.

Das Zustandekommen eines Heterosiseffekts, der sich in Bandenrepräsentanzen ausdrückt, könnte man sich durch das Auftreten einer vermehrten Anzahl von Hybridbanden in den Nachkommenschaften im Vergleich mit den Eltern vorstellen. Damit wird gleichzeitig unterstellt, daß die Nachkommen in höherem Maße heterozygot seien als die Eltern: je weniger "allelische Komponenten" bei zwei miteinander gekreuzten Eltern identisch sind, umso höher wird die Erwartung für die Q der Kreuzung. Eine solche Hypothese erscheint sinnvoll, wenn man berücksichtigt, daß die Elternbäume aus natürlichen Populationen stammen, die vermutlich weit genug voneinander entfernt sind, daß bei Kreuzungen zwischen ihnen Hybridbanden beobachtet werden, die natürlicherweise im Bestand fehlen, weil "allelische Komponenten" künstlich zusammengekreuzt worden sind, die auf natürlichem Wege nicht aufeinandertreffen würden. Daß es Bandengruppen gibt, die von einer derartigen Heterosis nicht betroffen sind, würde sich erklären lassen durch das Vorkommen von Isoperoxidasen, die eben allen Populationen gleichermaßen gemeinsam sind. Unmittelbare Schlüsse auf das Vorkommen von Hybridbanden können allerdings aus der qualitativen Struktur der Muster überhaupt nicht gezogen werden, denn es lassen sich (auch bei den Eltern) Hauptbanden schon einmal gar nicht ausgliedern. Es müßte zusätzlich eine Überlagerung der ganzen Muster durch konformationale Banden gefordert werden, die sich mit der angewandten Methode nicht gegenüber den Hybrid- und Hauptbanden auflösen lassen. Auch das Absinken des mittleren $Q(IV)$ unter den Wert 1 wäre nicht ohne weiteres zu erklären; es müßte ein Heterosiseffekt von repräsentanzmindernden Faktoren postuliert werden.

Auch für die Interpretation nach Vorschlag b) sprechen einige Überlegungen, obwohl ein ähnlicher Effekt bei den

Phänotypen aus Nadelextrakten nicht zu beobachten ist. Die Genome intakter Nadelzellen weisen selbstverständlich ziemlich konstante Muster aktiver und aktivierbarer Gene auf, die ihrer Spezialisierung entsprechen. Bei Calluszellen ist zu erwarten, daß sich diese Muster in einer mit den Kulturbedingungen korrespondierenden Form verändern. Dabei muß jedoch angenommen werden, daß bei älteren Individuen bestimmte Genomausschnitte nicht mehr oder nicht mit derselben Kulturmethode (re-)aktiviert werden können, oder daß zur Aktivierung bestimmter Genomausschnitte bei jüngeren Individuen besondere Behandlungen erforderlich sind.

32,23. Konsequenz aus den Ergebnissen des Abschnitts 32,2

Kurz zusammengefaßt ergibt sich aus dem zweiten Teil des Hauptversuchs, daß die unmittelbare Uebertragung der für andere Objekte bzw. für andere Enzymgruppen bewährten biochemischen Standardmethode nicht dazu geführt hat, daß einzelne Isoperoxidasebanden von vegetativem Douglasienmaterial - und zwar speziell von Calluskulturen - einer genetischen Interpretation zugänglich gemacht werden konnten.

Die Einführung von Hilfsgrößen quantitativer Natur (R und Q) unter Zusammenfassung von Zymogrammausschnitten zu Bandengruppen gestattet es, Anteile genotypisch bedingter Variation an der Gesamtvariation der Muster zu zeigen. Eine qualitative Charakterisierung von Individuen und Individuengruppen mit gemeinsamen Eltern ist durch Benutzung von Rangvektoren der R möglich.

Als Ergebnisse aus den Versuchsdaten werden Interpretationsvorschläge für die Variation der Muster abgeleitet:

- 1) Annahme komplexer genetischer Ursachen für Zymogrammausschnitte
- 2) Annahme extrakaryotischer Ursachen
- 3) $Q > 1$ als Heterosiseffekt
- 4) (Re-)Aktivierbarkeit unterschiedlicher Genomausschnitte in Abhängigkeit vom ontogenetischen Zustand der intacten Bäume

Die Interpretationsvorschläge haben teils hypothetischen, überwiegend spekulativen Charakter.

4 DISKUSSION

41, Ausgangspunkt, grundsätzliche und allgemeine Betrachtung
zu den Voraussetzungen der Untersuchungen

41,1 Praktischer Bedarf, Anspruch aus der Gesetzgebung und
Realisierbarkeit

Die beträchtliche Variationsbreite der Spezies *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco in verschiedenen morphologischen und physiologischen (auch phänologischen) Größen (ALLEN und OWENS 1972, BIROT 1972 und 1974, EMMINGHAM 1976, LARSEN 1978, STERN et al. 1974, SZIKLAI 1963 und 1973, TUSCO 1963, YANG 1975) ergibt die Möglichkeit und die Notwendigkeit, das für den Anbau vorgesehene Material auszuwählen. Die Bedeutung der Douglasie als eines der wichtigsten exotischen Waldbäume in Europa (LARSEN 1978, KLEINSCHMIT 1978, ROEHRIG 1978) rechtfertigt den staatlichen Anspruch, nur einwandfreies Vermehrungsgut zuzulassen. Anbauwürdig ist selbstverständlich solches Material, das "in der Gesamtheit seiner Erbanlagen" (Abs. 6 der Begründung zum Erlaß der Ersten Richtlinie des Rates der EWG vom 14.6.1966 über den Verkehr mit forstlichem Vermehrungsgut) so beschaffen ist, daß es "wegen seiner Güte für für die Nachzucht geeignet erscheint, und seine Nachkommenschaft keine für die Forstwirtschaft nachteiligen Eigenschaften", oder sogar "verbesserten Anbauwert" erwarten läßt (Par. 4 und 4a des Entwurfs eines zweiten Gesetzes zur Aenderung des Gesetzes über forstliches Saat- und Pflanzgut, 1979).

Abgesehen von der (hier nicht zu diskutierenden) Problematik einer "forstpraktischen" Zielsetzung, also der Frage danach, welche Eigenschaftenkombination an einem Individuum bzw. in einem Bestand unter Berücksichtigung aller letztlich wirtschaftlichen Ziele im Einzelfall als geeignet anzusehen ist (vgl. STERN et al. 1974), ergeben sich zwei weitere Problemkreise: 1. das Erkennen der "Gesamtheit der Erbanlagen", 2. die Herstellung der kausalen Verbindung zwischen ihr und der "Güte" des Phänotyps.

BRESCH und HAUSMANN (1972; Par. 11) stellen bei einfachen Modellobjekten (z.B. dem Bakteriophagen T4 oder dem Bacterium *Escherichia coli*), deren Genkarten bereits mehr oder weniger vollständig ausgearbeitet wurden, eine Analyse des "Netzwerkes der Genwirkungen in allen seinen Komponenten" für die nächsten Jahrzehnte in Aussicht. Trotz der bereits bekannten und der darüberhinaus zu erwartenden Gemeinsamkeiten aller biologischen Organismen mit den genannten Modellobjekten ist es jedoch ganz offensichtlich, daß dieses Ziel selbst für genetisch so gut durchanalysierte Arten wie *Drosophila melanogaster* und *Zea mays* in absehbarer Zeit nicht ins Auge gefaßt werden kann. Das trifft umsomehr auf genetisch bisher völlig unbekannte höhere Organismen wie die Waldbäume zu, bei denen die Analyse durch die lange Generationsdauer noch zusätzlich kompliziert wird. Würde man jedoch die vollständige Kenntnis des genetischen Wirkungsgefüges erlangen, dann wäre bis zu ihrer Anwendung in der Züchtung nochmals ein ähnlich weiter Weg zurückzulegen. Auch bleibt einstweilen die Frage offen, ob die vollständige Kenntnis des genetischen Wirkungsgefüges - im Zusammenhang mit dem auf die Dauer der Umtriebszeit nicht vorhersehbaren Wechsel von Wirtschaftszielen und den nur sehr beschränkt steuerbaren Umweltbedingungen, dem gesamten Anbau-risiko also (vgl. KLEINSCHMIT 1977) - überhaupt unmittelbar "praxisverwertbar" gemacht werden kann.

Die für die Länder der EG (damals EWG) spätestens seit 1966 verbindlich geforderte Sicherstellung der genetischen Qualitäten des Vermehrungsgutes (Erste Richtlinie des Rates der EWG vom 14.6.1966 über den Verkehr mit forstlichem Vermehrungsgut) muß deshalb - zumindest vorerst - auf anderem Wege angestrebt werden.

41,2 Die Isoenzymmethode als Instrument zur Genotypen-identifizierung an Waldbäumen

Als hervorragend geeignetes Instrument zur Erkennung und damit zur Ueberwachung der Manipulierung der genetischen Struktur von Individuen und Gruppen verwandter Individuen (z.B.: Familien, natürliche und künstliche Populationen) hat sich seit langem an einer großen Zahl von Modellobjekten die Isoenzym-

methode (Literaturschau z.B. bei SCANDALIOS 1969 und bei WAGNER und SELANDER 1974) bewährt. MUHS (1971 und 1975) hat an *Drosophila melanogaster* mithilfe bereits bekannter, genetisch analysierter Allozyme der Esterasen und Leucinamino-peptidasen gezeigt, daß sich Genotypen und Populationen durch solche Isoenzymmarker charakterisieren und identifizieren lassen. Diese Möglichkeit kommt dem oben geschilderten Bedarf entgegen: MUHS (1971) zitiert Beispiele, bei denen die Methode erfolgreich zur Identifizierung forstlicher Objekte verwendet worden ist. Inzwischen liegt eine Fülle von Untersuchungen vor, die beweisen, daß auf der Basis geeigneter theoretischer Ansätze (z.B. GREGORIUS 1974) möglich ist, "forstpraktische" bzw. "forstpraktisch" orientierte grundlegende Fragestellungen (z.B. BERGMANN 1974, MUELLER 1976 und 1977) durch Isoenzymanalysen zu klären (ausführliche Literaturübersichten zur Anwendung der Methode an forstgenetischen Problemen geben FERET und BERGMANN 1976, RUDIN 1976 und YANG 1975). Grundsätzlich gemeinsam ist allen diesen Beispielen, daß sie gerade nicht darauf abzielen, die "Gesamtheit der Erbanlagen" von Individuen zu erfassen, sondern nur darauf, irgendwelche Phänotypen oder Phänotypengruppen anhand sehr streng und einfach kontrollierter Genmarker voneinander zu unterscheiden und eventuell auch zu identifizieren. Damit können die aufwendigen, prinzipiell quantitativ arbeitenden Unterscheidungs- bzw. Identifizierungsverfahren, die auf der Erfassung morphologischer oder physiologischer Merkmale aufbauen (z.B.: EMMINGHAM 1976, RECK und SZIKLAI 1973, SZIKLAI 1963, TUSCO 1963) durch einfachere, übersichtlichere und vom Standpunkt der Genotypenbeurteilung wirksamere Verfahren ergänzt oder abgelöst werden (BERGMANN 1971, 1973 a und b).

Das sehr hoch angesetzte Ziel der oben zitierten EWG-Richtlinie, die ja für die Saat- und Pflanzgutgesetzgebung der Mitgliedstaaten verbindlich ist, wird allerdings auch nicht mit der Isoenzymmethode gelöst werden können: der Genotyp eines Individuums kann ja nicht unmittelbar beobachtet werden. Was beobachtet werden kann, ist immer nur ein Phänotyp, und das ist das Ergebnis einer unterschiedlich komplexen Reaktion eines Genotyps (verstanden als Reaktionsnorm) auf eine spezielle

Umwelt. Aus dem beobachteten Phänotyp können wiederum - soweit, wie die Umwelteinflüsse und die Reaktionsmechanismen bekannt sind - Rückschlüsse auf die Erbanlagen gezogen werden. Dies ist nicht ein spezielles Problem der Forstgenetik, sondern ein allgemein naturwissenschaftlich-erkenntnistheoretisches: aus einer physikalisch beobachtbaren Erscheinung wird auf deren Ursache geschlossen. Wie genau ein solcher Rückschluß trifft, das hängt davon ab, wie scharf die angestellten Beobachtungen sind - im Falle der Phänotypenbeobachtung ein biometrisches Problem - und davon, wie korrekt die aus den Beobachtungen gezogenen Folgerungen sind.

Will man - wenngleich, wie dargelegt, das verbal in der Richtlinie vorgesehene Ziel prinzipiell nicht erreichbar ist - dennoch die Intention des Gesetzes verfolgen, dann empfiehlt es sich natürlich, diejenigen Unsicherheiten zu minimieren, die im Verfahren der Beschreibung von Genotypen, also der Genotypenidentifizierung aus Phänotypenbeobachtungen, die wesentlichste Fehlerquelle darstellen. Es ist trivial, festzustellen, daß die Rückschlüsse vom Phänotyp auf den Genotyp umso problematischer sind, je mehr Faktoren an der Ausprägung der beobachteten Merkmale beteiligt sind. Gelingt es, Merkmale zu beobachten, deren Ausprägung von je nur einem Gen, und gleichzeitig unterscheidbar nach dessen verschiedenen Allelen, bestimmt wird, dann ist die Genotypenidentifizierung damit auf das biometrische Problem der Phänotypenbeschreibung reduziert worden. Dieses ist wiederum so gut wie bedeutungslos, sofern die Phänotypen sogenannte qualitative Merkmale zeigen (z.B. die Alternative: fehlende oder vorhandene Bande an einer bestimmten Position im Trenngel).

Die Isoenzymelektrophorese bietet diese Möglichkeiten, weil die Proteinanteile der Enzyme das unmittelbare Ergebnis der Transkription darstellen, und weil die elektrophoretischen Wanderungseigenschaften der Proteine durch ihre Aminosäuresequenz, die sich an der Nukleotidsequenz der individuellen DNS-Matrizes orientiert, bestimmt ist. Außerdem bietet die Technik der enzymatischen Anfärbung der Proteinbanden im Gel die Möglichkeit, einen überschaubaren Ausschnitt aus dem

Gesamtspektrum der insgesamt aufgetrennten Proteine zu beobachten, dem jeweils Ausschnitte von Koppelungsgruppen zugeordnet werden können. Die Isoenzymmethode erlaubt also nicht, die "Gesamtheit der Erbanlagen" zu beobachten oder durch Rückschlüsse zu beschreiben. Es ist aber mit ihrer Hilfe möglich, Individuen voneinander durch Merkmale mit sehr strenger genetischer Kontrolle und "qualitativer" Ausprägung zu unterscheiden. Sofern es gelingt, eine hinreichend große Anzahl von Genloci und deren Allelen (ggf. verschiedener Enzymgruppen) zu beschreiben, wird es damit auch möglich, einzelne Genotypen so genau zu charakterisieren, daß ihre Verwechslung mit anderen Genotypen mit praktisch ausreichender Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann.

Die wesentliche Voraussetzung dafür, daß die Isoenzymtechnik in diesem Sinne eingesetzt werden kann, ist es, daß die beobachteten Isoenzymbanden tatsächlich "unmittelbare Genprodukte" (MUHS 1971, Abschn. 4.8), d.h. "primäre Produkte der Gen-spezifischen Ribonukleinsäuren" (BERGMANN 1971) sind, denn genau dann ist es möglich, durch unmittelbare Rückschlüsse von der beobachteten Bandenkonstellation zu einer gültigen Aussage mit genetischer Relevanz zu kommen.

Bisher wurden an verschiedenen Arten der Gattungen *Abies*, *Larix*, *Picea*, *Pinus* und *Pseudotsuga* insgesamt etwa 150 Genloci identifiziert, deren je 1 bis 6 (in den meisten Fällen je 2 bis 4) Allele durch Isoenzymbanden erkennbar sind.

An der Douglasie wurden bisher 14 Genloci bei 7 verschiedenen Enzymgruppen beschrieben, doch handelt es sich dabei ausschließlich um solche Enzymgruppen, die nur im Endosperm der

Samen oder in dem noch verhältnismäßig wenig differenzierten vegetativen Material junger Keimlinge gefunden werden (BERGMANN 1973c, 1975, MEJNARTOWICZ und BERGMANN 1977, YANG 1975, YANG et al. 1977).

Die Untersuchung von Keimlingen und Endosperm hat den Nachteil, daß durch die Extraktion das untersuchte Material vernichtet wird. Auf der anderen Seite ist die Darstellung aktiver Enzyme aus ausdifferenzierten vegetativen Geweben, die ohne wesentliche Beschädigung wiederholt vom Untersuchungsobjekt abgenommen werden können, besonders bei der Douglasie mit den verfügbaren Extraktionsverfahren problematisch. Catalasen, Esterasen, saure Phosphatasen, Glutamatdehydrogenasen und Leucinaminopeptidasen aus Extrakten von Nadeln älterer Douglasien werden nur bei COPES (1975) erwähnt. Einige Isoenzymbanden erweisen sich hier als bedingt (nämlich in Abhängigkeit vom Stichprobenumfang: Anzahl der nicht identischen Individuen innerhalb der verglichenen Gruppen) geeignet, um zwei verschiedene Zwergwuchsformen voneinander und von normalwüchsigen Douglasien zu unterscheiden; weitergehende Hinweise auf die genetische Relevanz der Muster werden nicht abgeleitet.

Da auch in eigenen Voruntersuchungen (vergl. Abschnitt 22,2) in den bei COPES getesteten Enzymgruppen (Glucose-6-phosphatdehydrogenasen anstelle von Glucamatdehydrogenasen) wie bei MUHS (1976) berichtet, keine hinreichend reproduzierbaren Isoenzymmuster dargestellt werden konnten, erschien es angezeigt, in allen Versuchen Parallelläufe der Elektrophorese auf Peroxidaseisoenzyme zu untersuchen.

41,3 Vorteile und Problematik von Peroxidase-Isoenzymen als Genmarker

Es ist bekannt, daß sich Peroxidasen wegen ihres Vorkommens in fast allen vegetativen Pflanzengeweben, ihrer enzymatischen Stabilität bei Extraktion und der einfachen Nachweisreaktion für derartige Untersuchungen und vor allem für die praktische

Anwendung besonders eignen (siehe z.B. DENNA und ALEXANDER 1975). MUHS (1974) hat signifikante Unterschiede der Isoperoxidasefrequenzen aus Nadelrohextrakten zwischen einer Reihe von Douglasienprovenienzen (im Gewächshaus angezogenen Sämlingen aus einer Auswahl der 1966/67 von der IUFRO im natürlichen Verbreitungsgebiet gesammelten Samenstichproben; BARNER 1973) festgestellt; allerdings ließ sich auch dort die Variation der Muster nicht auf definierbare Gene (Allele) zurückführen, so daß es sich um eine Abstandsmessung zwischen "elektromorphen Phänotypen" (KING und OHTA, zit. nach ALLENDORF 1977) handelt. Nach dem Versuch von BOOS (1978), der im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit die jahreszeitlichen Schwankungen der Isoperoxidasemuster an drei Freilandstandorten in der Umgebung von Freiburg zum Thema hatte, ist damit zu rechnen, daß derjenige Anteil der bei MUHS (1974) gemessenen Abstände zwischen den Provenienzen, welcher auf das Konto der über das Jahr verteilten Stichprobennahme zu buchen ist (das Gewächshaus des Versuchsgartens des Waldbauinstituts der Forstlichen Fakultät Freiburg, in dem die Sämlinge gezogen und gehalten wurden, hatte - da nicht klimatisierbar - etwa dieselben Klimabedingungen wie der bei BOOS untersuchte "Standort 1"), nicht von demjenigen Variationsanteil getrennt werden kann, welcher auf provenienzenspezifischen Häufigkeiten von Strukturgen-Allelen, die für Peroxidaseproteine codieren, beruht.

Auch die bei FERET (1974) zur Unterscheidung von drei natürlichen Pinus pungens-Beständen angewendeten Isoenzymmuster aus Nadel-extrakten (Peroxidasen und Esterasen) können nicht auf eine genetische Basis gestellt werden, obwohl auch Nachkommenschaften (und zwar Nadelextrakte aus im Gewächshaus angezogenen Sämlingen aus Bestandesabsaaten) untersucht wurden: signifikante Unterschiede in einigen Banden zwischen Beständen bestätigen sich nicht in den Nachkommenschaften, deren Muster aus anderen Banden bestehen. Der Einsatz der Makrogametophytenanalyse, wie sie auf Anregung STERNs (HATTEMER 1978), bei BARTELS (1971) und BERGMANN (1971) zur Demonstration der genetischen Kontrolle von Gymnospermen-Isoenzymen erstmalig angewendet wurde,

führt bei FERET (1974) zu dem Ergebnis, daß die drei Bestände gemeinsam aus "einer panmiktischen Population" hervorgegangen seien. Diese Aussage basiert auf der Segregation zweier Allele "A" (active) und "I" (inactive) des im Endosperm nachgewiesenen Esterasegenorts "FGE6" (female gametophyte esterase, sechste beobachtete Bande) und auf der Übereinstimmung der danach rekonstruierten Genotypenfrequenzen in jedem der drei Bestände für sich und in allen drei Beständen gemeinsam mit Hardy-Weinberg-Proportionen (HARDY 1908, WEINBERG 1908, CROW und KIMURA 1970, JAQUARD 1974) an diesem Genort. Auf der Basis der Annahme, daß die beobachteten Banden in Nadelextrakten ebenfalls unmittelbare Genprodukte seien, deren Unterschiede Abweichungen zwischen den genotypischen Strukturen der Altbestände direkt anzeigen, führt die Annahme der "panmiktischen" Entstehung der drei Bestände zur Konstruktion plausibler intuitiver Modelle zur Erklärung dieser Abweichungen: durch genetische Drift im Falle der Abstammung von wenigen, durch mikroklimatisch bedingte Selektion im Falle der Abstammung von vielen "Samenbäumen" der vorhergehenden Generation, oder durch ein Zusammenspiel dieser Mechanismen. Die Annahme von Umwelteinflüssen (und anderen physiologisch wirksamen Faktoren) verwirft FERET mit dem Hinweis auf die Ähnlichkeit der Standorte. Geht man jedoch von der a-priori-Annahme der unmittelbar genischen Bedingtheit der Nadelisoenzymbanden ab, dann wird man solche standörtlichen Unterschiede, die geeignet sind, durch Selektion signifikante Unterschiede zwischen den genotypischen Strukturen der drei Bestände zu erzeugen, auch als eventuell ausreichend ansehen können, um umweltabhängig modifizierbare Muster signifikant zu variieren. Eine solche Modifizierbarkeit kann man sich als vorteilhaft im Sinne einer Standortsanpassung vorstellen, so daß sie sogar Selektion verhindert und damit - Zufallspaarung vorausgesetzt - näherungsweise zur Erhaltung von Hardy-Weinberg-Proportionen nicht der erkannten Merkmale aber der unerkannten Genotypen beigetragen haben kann. Die Homogenität der Nachkommenschaft, die unter identischen Gewächshausbedingungen gezogen wurde, könnte ein Ausdruck dafür sein. Denselben Effekt könnte aber auch eine ontogenetisch bedingte Mustervariation hervorbringen: die Nachkommen sind gleichaltrig, die Bestände nicht; einzelne Bäume können z.B. durch ihre Stellung im Bestand in einem

individuellen Maße blühdisponiert sein. Die Architekturen der Bestände können sich mit Wirkung auf diesen umwelt-induzierten, ontogenetischen dauerhaften oder reversiblen Effekt signifikant voneinander unterscheiden, ähnlich, wie sich z.B. die Isoenzymmuster diesjähriger Nadeln von denen letztjähriger unterscheiden (an *Picea abies* gezeigt bei ESTERBAUER et al. 1978). Dieser Unterschied liegt in einer differentiellen Genaktivität begründet (CZIHAK et al. Ed. 1976, Kap. 4.7.), von der eine differentielle Ausprägung der Isoenzymmuster ohnehin erwartet wird.

Für die Möglichkeit solcher verschieden zu begründenden Schwankungen der pflanzlichen Isoperoxidasemuster gibt es zahlreiche experimentelle Evidenzen, im Folgenden kurz referiert nach ARNISON und BOLL (1976): "Peroxidases (EC 1.11.1.7) are widely distributed among higher plants and have been investigated in relation to many different activities⁺. They are known to have organspecific isoenzyme patterns in many plants⁺. These patterns may change with development⁺. Peroxidases have been implicated in and associated with lignin formation⁺, the development of the cell wall⁺, dwarfism⁺, NAD-NADH² redox⁺, ion transport⁺, fruit ripening⁺, the biosynthesis of ethylene⁺, and response to injury and disease resistance⁺. Peroxidase isoenzymes were found to vary with light and temperature treatments⁺, and with nutritional regime⁺."

Auch die bei MITTON et al. (1977) am Ende seiner Diskussion gebrachten Gesichtspunkte weisen darauf hin, daß die dort an *Pinus ponderosa* beobachteten und ziemlich komplex in populations-dynamischen Termini gedeuteten Isoenzymchwankungen zwischen Beständen bei nicht absolut gesicherter genetischer Relevanz ebenso gut auch durch Umwelteinflüsse gedeutet werden können. Zwar demonstriert ganz allgemein eine Abweichung der genetischen Struktur von Hardy-Weinberg-Proportionen (wie MITTON et al. 1977 sie anhand ihrer Ergebnisse vorführen) immer, daß in der beobachteten Population ein panmiktisches Paarungssystem nicht realisiert ist. Wesentliche Voraussetzungen für ein panmiktisches

+ An den mit dem Kreuz bezeichneten Stellen wurden die insgesamt 41 Literaturninweise aus dem Zitat weggelassen; eine beliebig lange Reihe weiterer Hinweise könnte hinzugefügt werden.

Paarungssystem sind unter anderem, daß Paarungen zwischen allen Genotypen mit gleicher Wahrscheinlichkeit zustandekommen, und daß andere Einflüsse als die damit als konstant angenommene (reproduktive) Fitness - wie vor allem Selektion, Mutation und Migration - ausgeschlossen sind (ELANDT-JOHNSON 1971, Kap. 4.2.1.). Diese Bedingungen sind in realen Populationen, insbesondere auch in natürlichen Waldbeständen, grundsätzlich nicht erfüllt, weil hier schon die Paarungswahrscheinlichkeiten räumlich und zeitlich schwanken (siehe STERN und ROCHE 1974). Wird in einer realen Population ein Merkmal nach Hardy-Weinberg verteilt vorgefunden, dann kann dies bedeuten,

1. daß das Merkmal unmittelbarer Ausdruck der Wirkung von Genen (Allelen) ist, wobei gleichzeitig eine Zufallspaarung hinsichtlich dieses Merkmals zur Begründung dieser Population geführt hat, die von der theoretischen panmiktischen Paarung nicht signifikant abweicht, oder
2. daß - wenn eine annähernd panmiktische Paarung nicht stattgefunden hat - ein Merkmal beobachtet wurde, welches die Abweichung von der Zufallspaarung nicht erkennen läßt, weil es von der realen Gen-(Allel-)verteilung nicht oder in einer solchen Form abhängig ist, daß es durch Zufall oder durch Modifizierbarkeit eine Hardy-Weinberg-Verteilung derselben vortäuscht (HATTEMER 1978).

Dasselbe gilt sinngemäß beim Vergleich einer realen Merkmalsverteilung mit einer beliebigen theoretischen, z.B. auch für systematische Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Sofern also der Vererbungsmodus eines Merkmals nicht bekannt ist, dürfen andere als rein genetische Interpretationsmöglichkeiten für seine Verteilungen als Basis einer populationsanalytischen Aussage nicht von vornherein ausgeschlossen werden, und populationsdynamisch denkbare Gen-(Genotypen-)Strukturen können dann auch nicht als Beweis der genetischen Aussagefähigkeit des Merkmals verwendet werden. Gerade die Kompliziertheit der gegenseitigen Einflüsse z.B. zwischen Selektion und Genfluß (bei *Pinus ponderosa* während der Anthesis durch weithin sichtbare Pollenwolken besonders auffällig, MITTON et al. 1977)

ist im speziellen Fall eher geeignet, Zweifel an der Eigenschaft der Isoenzyme als Genmarker zu wecken, als sie zu bestätigen. Der bei MITTON et al. als "Heterozygotenüberschuß" gegenüber einer Hardy-Weinberg-Erwartung gedeutete Effekt in Beständen auf Trockenstandorten könnte ebensogut durch Aktivierung eines am Nordhang seltener aktiven Enzyms (z.B. aus einem stets vorhandenen Proenzym, CZIHAK et al. Eds. 1976, Kap. 1.2.1. und 1.6.; LEHNINGER 1970, Kap. 9.) oder auch durch ein konformationales "Isoenzym", das unter dem durch Einfluß des Trockenstandorts geänderten physiologischen Zustand der Parenchyme gebildet wird oder auch nur ein geeignetes Reaktionsoptimum hat, vorgetauscht werden (HATTEMER 1978). Eine solche Erklärung bietet sich an, zumal die Zuordnung der drei beschriebenen Banden zu drei Allelen eines Genorts aufgrund des Materials zwar denkbar, aber nicht gesichert ist: es treten keine bei Mendelspaltung unmöglichen Bandenkombinationen auf, doch wird die Aufspaltungserwartung nur qualitativ an zwei denkbaren Beispielen vorgeführt und selbst für diese nicht vollständig; es werden nur die drei schnellsten anodischen Banden ohne Berücksichtigung des übrigen Zymogramms betrachtet, für welches noch einige weitere "putative loci" angenommen werden.

Um die Problematik der Interpretation von Isoperoxidase-Phänotypen nur kurz zu beleuchten, sollen einige grundlegende Aspekte zur Isoenzymbildung bei den Peroxidasen im möglichen Rahmen angeführt werden.

Mit den hier verwendeten, wie auch anderen allgemeinüblichen ähnlichen Färbeverfahren (BERGMEYER 1970, BREWER 1970, DIXON und WEBB 1964, MAURER 1968) erscheint eine Gruppe von Enzymen, die bezüglich der strengen Bindung an H_2O_2 als Rezeptor sehr einheitlich, bezüglich des Protonendonors jedoch unspezifisch und in dieser Eigenschaft uneinheitlich sind. Die verschiedenen Isoenzyme katalysieren die Oxidation z.B. phenolischer Moleküle (als Phenoloxidasen), des Cytochrom c (Cytochromoxidasen - Warburgsches Atmungsferment), von Nitrit und Leukofarbstoffen (SCANDALIOS 1969) sowie von Indolylessigsäure (als IES-Oxidasen) (BREWBAKER und HASEGAWA 1975), von aromatischen primären, sekundären und tertiären Aminen, bestimmten heterocyclischen

Verbindungen (wie Ascorbinsäure und Indol) und auch von einigen anorganischen Ionen. Dabei entwickeln die einzelnen Isoenzyme den einzelnen Wasserstoffdonoren gegenüber mehr oder weniger deutlich verschiedene Aktivität, sind jedoch nur zum Teil nach dem Donor auch qualitativ unterscheidbar (LIU 1975). Neben hexameren Isoenzymen mit Molekulargewichten von ca. 240.000, nämlich dem Cytochrom aa_3 -System, deren sechs Unter-einheiten (Monomere) vermutlich gleich, jedoch im aggregierten Hexamer durch ihre Funktion und durch optische Eigenschaften als Cytochrom a und Cytochrom a_3 unterscheidbar sind (LEHNINGER 1970), können im selben Zymogramm auch weniger komplexe, aktive Peroxidasen mit Molekulargewichten bei z.B. 150.000 oder 82.000 (KARLSON 1972) oder monomere aktive Peroxidasen mit einem Molekulargewicht bei 42.000 (LIU 1975) erscheinen. Wie weit die niedrigeren Aggregationsstufen bis hin zum Monomer eines im nativen Zustand höher aggregierten Enzyms noch Banden hervorbringen, und inwiefern diese ggf. in der Substratspezifität und in ihren molekülspezifischen Optimalbereichen (z.B. pH, Temperatur etc.) abweichen, kann im speziellen Fall nicht vorhergesagt werden. *)

Allen Peroxidasen gemeinsam ist als prosthetische Gruppe ein Eisenporphyrinring (ähnlich dem des Hämoglobins), der an drei Stellen an das um ihn herumgefaltete Protein gebunden ist. Die Tatsache, daß die "physiologische" oder "biologische Funktion der Peroxidase" von verschiedenen Autoren je nach den untersuchten Aspekten so unterschiedlich und - soweit es sich nicht um die Cytochrom-c-Oxidation durch die Cytochromoxidasen

*) Im Rahmen der hier nicht näher ausgeführten Vorversuche zur vorliegenden Arbeit wurden Zymogramme von Nadelextrakten einiger Douglasien auch auf Cytochromoxidasen (Cytochrom aa_3) angefärbt. Es ergaben sich Muster, die mit denen der Benzindinfärbung qualitativ vollkommen identisch, nur insgesamt deutlich schwächer gefärbt waren. Ob sich die relativen Intensitäten der Isoenzymbanden zwischen den beiden Färbungen unterschieden, ob also quantitative Unterschiede der einzelnen Isoenzyme bezüglich ihrer Substratspezifität vorhanden waren, konnte nicht ermittelt werden.

handelt - stets als nicht scharf definierbar angegeben wird, liegt sicherlich in den verschiedenen, teils unscharf abgrenzbaren Donorspezifitäten der einzelnen Isoenzyme.

Dem eingangs genannten Vorteil der Verwendung von Peroxidasen (leichte Nachweisbarkeit) stehen also eine Reihe von Eigenschaften gegenüber, die ihre Handhabung als Genmarker besonders erschweren. "It is characteristic of peroxidase that its isozyme pattern is complicated and difficult to interpret. Even in the most thoroughly studied peroxidase system, that isolated from horseradish roots, there is no agreement as to the actual number of isozymes present." (Zitat nach LIU 1975).

Nimmt man die Möglichkeit der Hybridbandenbildung (FERET und BERGMANN 1976) z.B. für hexamere Cytochromoxidasen auf der Basis codominanter Allele an, dann wird bereits dieser Teil des Zymogramms schwer überschaubar. Er kann mit anderen Zymogrammpartien überlappen, so daß die Banden verschiedener Allele eines Genorts durch die von einem anderen Genort codierten getrennt liegen (vergl. z.B. MUHS 1971: die Bande LAP C6). Die Entstehung von Hybridbanden (in diesem Falle bei dimeren Peroxidasen) der Heterozygoten mit codominanten Allelen demonstrieren PAI et al. (1973) und SHAHI et al. (1969) an Reis (*Oryza sativa* und *O. perennis*); hier finden sie auch zwei unabhängige, organspezifisch aktive dominante Regulatorgene, die das Erscheinen einer bestimmten Bande reprimieren. Eine weitere Komplizierung ist durch die Möglichkeit der Ausbildung konformationaler Banden (MUHS 1971, PAHLICH 1972) gegeben.

MADER et al. (1975) zeigen, daß verschiedene Isoenzymgruppen der Peroxidasen aus Tabakzellen in verschiedener, organ- und gewebespezifischer Form an die Zellwände gebunden vorliegen, wobei ein direkter Zusammenhang zur ontogenetischen Entwicklung und parallel dazu zur jeweiligen biologischen Funktion der Gruppen vermutet wird. Die starke Bindung der Peroxidasen an Zellwandstrukturen wird bei Extraktion nur durch besondere Verfahren (Verwendung eines Detergens wie Tween 80, vergl. Abschnitt 22,2, oder einer hochmolaren Extraktionslösung, vergl. LEE 1973) aufgelöst. Die in-vitro-Peroxidasenreaktion

ist in solchen Fällen streng genommen als grundsätzlich "arteficiell" anzusehen; es muß im Einzelfall untersucht werden, ob die entstehenden "Artefaktbanden" reproduzierbare Muster liefern oder nicht. Es liegt ja auf der Hand anzunehmen, daß die Bindung an die Zellwandstrukturen im Zusammenhang mit der Integration der Peroxidasen in bestimmte biochemische Reaktionsketten zu sehen ist, wobei sie durchaus scharf definierbare Funktionen ausüben, wenn sie in so einer Kette nur mit einem bestimmten Donor "beliefert" werden. Wie weit solche Enzymsysteme, vielleicht auch Multienzymkomplexe (CZIHAK et al., Ed. 1976, Kap. 1.2.1.) bei der Anfertigung von Rohextrakten aufgelöst werden, ob also die Peroxidasemoleküle "rein" oder auch mit anderen Proteineinheiten verbunden im Extrakt letzten Endes vorliegen, kann nicht ohne weitergehende Untersuchungen festgestellt werden.

Einen in mancher Hinsicht vergleichbaren Fall beschreiben SHAW et al. (1975) an "microsomal mixed function oxidases", die ähnlich an Mikrosomenmembranen gebunden sind und stets als komplexes Molekül aus wenigstens zwei Polypeptideinheiten auftreten. Als erste Einheit wird eine NADPH-abhängige Reduktase angegeben, als zweite ein Cytochrom P-448 oder P-450 (*).

SHAW et al. demonstrierten an einer speziellen "Microsomal mixed function oxidase", der Aryl-Hydrocarbon-Hydroxylase, eine polygenische Bedingtheit der Isoenzymbanden (beim Menschen). Da sich das aktive Enzym aus mindestens zwei Proteineinheiten aufbaut, muß (entsprechend der "Ein Gen-Ein Enzym-Hypothese": BRESCH und HAUSMANN 1972, Kap. 8/2) ein Zusammenwirken von entsprechend mindestens zwei Genen erwartet werden.

In diesem Falle sind "intergenische Hybridbanden", wie sie v. CIRIACY-WANTRUP (1975) für Hefe erstmalig an Alkoholdehydrogenase als Sonderfall demonstriert, die Regel.

Da bei zellwandgebundenen Peroxidasen eine ähnliche Kopplung mit anderen Molekülen im Extrakt denkbar ist, sollte man auch bei ihnen die Möglichkeit komplizierterer Vererbungsmodi durch Interaktionen zwischen Strukturgenen verschiedener Loci nicht von vornherein ausschließen.

(*) : (zur Klassifikation der Cytochrome siehe DIXON u. WEBB 1967).

41,4 Zum Ansatz der Versuche

Diese Anmerkungen zu veröffentlichten Interpretationen experimenteller Ergebnisse und der kurze Abriß grundsätzlicher, teils spekulativer Erwartungen sollte demonstrieren, daß aus Peroxidaseisoenzymmustern eine zweifelsfreie Zuordnung zwischen Banden und den sie bedingenden Genen (Allelen) mit einfachen Mitteln (z.B. durch bloße qualitative Überprüfung von Mendel-aufspaltungen in Sämlingen aus Bestandesabsaaten) nicht zu erwarten ist. Solange nicht alle Parameter, von denen Einflüsse auf die Allelhäufigkeiten in Populationen ausgehen (also im wesentlichen die Parameter des Paarungssystems, der verschiedenen Formen der Selektion, der Drift, Migration und Mutation) im einzelnen bekannt sind, gibt auch die Übereinstimmung der Bandenfrequenzen mit irgendwelchen Häufigkeitserwartungen (wie oben zum Hardy-Weinberg-Modell und spekulativ begründeten Abweichungen davon erörtert) nicht die notwendige Sicherheit zur Koordinierung bestimmter Peroxidasebanden mit Genen und Allelen.

Will man weitreichende Aussagen mit genetischer Implikation, wie sie z.B. für die Identifizierung von Klongemischen notwendig sind, auf dem Verhalten der Isoenzymhäufigkeiten in Stichproben aufbauen, dann ist es notwendig, die Modalitäten ihrer genetischen Bedingtheit im Kreuzungsexperiment (oder auf andere Art durch unmittelbare Prüfung der Merkmalssegregation, z.B. RUDIN 1974) vorher detailliert abzuleiten.

FERET und STAIRS (1971) und FERET (1972) haben an intra- und interspezifischen Kreuzungen mit Ulmen die genetische Kontrolle einiger Peroxidasebanden gezeigt: für *Ulmus pumila* L. war die Variation einer Partie des Musters durch die Kontrolle von einem Genort mit drei codominanten Allelen aus erklärbar. Bei den Interspezieskreuzungen werden zum Teil gute Übereinstimmungen mit Mendel-Aufspaltungen gemäß einer Erwartung bei monogenischer Kontrolle der Banden durch codominante Allele gefunden; wo nicht, ließen sich die Abweichungen durch Crossing over zwischen Peroxidaseloci, durch Akkumulation von Lethalallelen oder durch Dominanz begründen. Diese beiden Experimente belegen die Möglichkeit, eine plausible genetische Hypothese auch für

die Peroxidasen von Holzpflanzen an Material mit überschaubaren Verwandtschaftsbeziehungen zu entwickeln.

Bei dem für die vorliegende Arbeit vorhandenen Douglasien-Kreuzungsmaterial bestand diese Aussicht ebenfalls, denn - unter der Voraussetzung ausreichender genetischer Variation der Elternindividuen - konnte angenommen werden, daß durch die verschiedenen Proportionen der Merkmalssegregation in den einzelnen Nachkommenfamilien aus den insgesamt 12 Kreuzungen die für einzelne Kreuzungen denkbaren, jedoch unzutreffenden Hypothesen mit hinreichender Sicherheit als widerlegbar erkannt werden würden.

An Endospermextrakten einiger weniger Douglasiensamen unbekannter Herkunft ließen sich Peroxidasen nicht zeigen (eigener Vorversuch). Es war grundsätzlich und nach dem Pinus pungens-Beispiel (FERET 1971) nicht zu erwarten, daß im Endosperm Peroxidasen derselben Wanderungseigenschaften wie im vegetativen Material nachweisbar sind, so daß durch eine ggf. beobachtbare Gameten-segregation eine Bestätigung der genetischen Hypothesen für die "Nadelperoxidasegene" ohnehin eher unwahrscheinlich war. Die Untersuchungen waren auf vegetatives Material ausgerichtet und die Verwandtschaftsverhältnisse bekannt. Einziger wesentlicher Vorteil einer Endospermanalyse wäre somit die Kontrolle der Methode durch übersichtliche Aufspaltungs-verhältnisse irgendwelcher Isoenzymmarker gewesen.

Letztlich ausgeschlossen war die Endospermanalyse jedoch einfach dadurch, daß zur Zeit der Versuche weder von irgendeinem der in allen Versuchen verwendeten, noch von anderen Douglasien Samenmaterial beschafft werden konnte, dessen Herkunft mit hinreichender Genauigkeit feststellbar war. An die Stelle der Endospermanalyse wurde deshalb der Test an Diprion pini gesetzt.

Die am Kontrollbaum KO (Abschnitt 31, 21.1; Übersicht 5) beobachteten und bei BOOS (1978) weiter untersuchten und auch an anderen Objekten (z.B. ESTERBAUER und GRILL 1977) bestätigten Schwankungen der Muster im Jahresablauf sowie die

auf das Alter der Nadeln zurückzuführenden Abweichungen wurden im Hauptversuch durch zwei Prinzipien ausgeschaltet:

1. Entnahme der Proben vorjähriger Nadeln (Kreuzungsmaterial) zu gleicher Zeit,
2. Übernahme des gesamten Kreuzungsmaterials in Gewebekultur.

Bezüglich der Wirksamkeit der erstgenannten Maßnahme sind Einschränkungen (Abschnitt 42,12.) zu erwarten.

Für die Verwendung der Isoenzymmuster aus Gewebekulturen sprachen noch weitere Gesichtspunkte. Wie KLEINSCHMIT et al. (1973) und KLEINSCHMIT (1974) darstellen, ist die Versorgung der Forstbetriebe mit vegetativem Vermehrungsgut von Koniferen (in diesem Falle Fichte) bei uns möglich und wirtschaftlich diskutabel, bei Douglasie ist sie besonders wegen der langen Zwischenzeiten zwischen Blühjahren (Samenjahren) erstrebenswert. Nachdem es zuerst an einer Reihe von Modellobjekten, vor allem Cruciferen, Leguminosen und Solanaceen (ausführliche Methodendarstellungen und Literaturlisten, z.B. bei GAMBORG und WETTER, Ed., 1975) gelang, aus intakten Pflanzengeweben Calli zu ziehen und daraus wieder differenzierte Gewebe und vollständige Pflanzen zu regenerieren, ist dieses Vorgehen auch mit ersten Erfolgen an Waldbäumen angewendet worden (BROWN und SOMMER 1975; WINTON und HUHTINEN 1976).

Auch über Regeneration ganzer Pflanzen aus Embryo- bzw. Cotyledonenkultur der Douglasie wird berichtet (WINTON und VERHAGEN 1977, CHENG und VOQUI 1977). Es ist damit zu rechnen, daß durch ein solches Verfahren die bei der Pfropfung und der Stecklingsvermehrung insbesondere der Douglasie immer noch problematischen Topophysiseffekte (KLEINSCHMIT 1977 und 1978) ausgeschaltet werden können, daß aber die genetische Information ohne sonstige Beeinflussung genauso weitergegeben wird, wie bei der klassischen Vegetativvermehrung. HUHTINEN und YAHYAOGU (1974) und HUHTINEN (1976) demonstrierten das eindrucksvoll an den von STERN (1961) auf frühes Blühen selektierten Birken: von den aus in vitro-Kalli regenerierten Pflänzchen konnten noch im selben Jahr reife Samen geerntet werden. In eigenen Versuchen (GLOCK und STEINHAUER laufende Versuche) wurden aus Blutbirkenkallus Regeneratsprosse, -wurzeln und ganze Pflanzen regeneriert,

die in der Färbung der Mutterpflanze vollkommen gleichen. Die Regeneratpflanzen zeigen dieselben, zum Teil auffälligen Wuchseigenschaften wie normale Sämlinge desselben Materials.

MAEDER(1974) demonstriert einen geordneten Ablauf der Veränderungen der Isoperoxidasemuster von Tabak-Calli beim Durchlaufen verschiedener Stadien der Differenzierung. Nach WOLTER und GORDON (1975) ist damit zu rechnen, daß es in absehbarer Zeit möglich sein wird, Isoperoxidasemuster auch bei Holzpflanzen (hier demonstriert an *Populus tremuloides*) als "predictive indicators" für Zellwachstum und Differenzierungszustand in Calli einzusetzen. Auch im Douglasien-Callusmaterial zur vorliegenden Arbeit gibt es Anhaltspunkte für eine Verwendbarkeit der Muster in diesem Sinne (STEINHAUER 1976). Es sollte demnach, sobald der Gen- und Allelenbestand einer Art beschrieben ist, möglich sein, ein Individuum derselben in jedem beliebigen Differenzierungszustand eines Callus aus den Banden der jeweils synthetisierenden Genloci zu identifizieren, bzw. Gene (Allele) zu definieren, wenn es gelingt, Calli verwandter Individuen in einen beliebigen, aber gleichen Differenzierungszustand zu bringen. Da Calli sich auch über längere Zeit durch geeignete Kulturmethode aufbewahren und teilen (vegetativ vermehren) lassen, kann für Kontroll- und Vergleichswiederholungen im Labor jederzeit beliebig viel Material bereitgehalten werden (Möglichkeiten und Problematik diskutiert z.B. bei HENSHAW 1975, sowie bei TEO und HUHTINEN 1975), auch um einen gewünschten Differenzierungszustand jederzeit reproduzieren zu können. Für Waldbäume allerdings sind die dazu notwendigen Methoden erst noch zu entwickeln. Sofern es dabei gelingt, dieselben Genaktivitäten aus Material von Bäumen verschiedenen Alters zu induzieren, können damit die Probleme der Individuen- (Merkmals-)erkennung, die auf "juvenile-mature-correlations", also auf ontogenetisch-cyklophysisch unterschiedlicher Merkmalsausprägung beruhen (vergl. SZIKLAI 1974), auf einfache Weise eliminiert werden. Dabei braucht die Genaktivierung (-reaktivierung) in vitro für den hier angesprochenen Zweck nur diejenigen Merkmale zu betreffen, die als Marker verwendet werden.

42, Diskussion der Ergebnisse auf der Basis der in
Abschnitt 41, zusammengefaßten Voraussetzungen

Die Ergebnisdarstellung im Abschnitt 3 umfaßt im wesentlichen zwei - nicht immer scharf abgesetzte - Teilbereiche:

- 1) die Darstellung der wichtigsten Daten aus dem Material der experimentellen Ergebnisse
- 2) die Angabe der einzig denkbaren oder nächstliegenden Interpretationsmöglichkeiten als Ergebnisse aus den experimentellen Daten

Aufgabe dieses Abschnittes der Diskussion ist es, diese Interpretationen mit Rücksicht auf ihre Aussagefähigkeit zu bewerten und das Wesentliche der Aussage herauszustellen.

42,1 Die Vorversuche

42,11. Das Modellexperiment mit *Diprion pini* und seine Bedeutung für die Untersuchungen an der Douglasie

Die Abwandlung der Elektrophoreseapparatur sowie die in den Vorversuchen aufgetretenen Schwierigkeiten bei der Reproduktion anderer Enzyme als der Peroxidasen ließ den Modellversuch wünschenswert erscheinen. Die besondere Eignung der Kiefernbuschhornblattwespe ergibt sich - wie dargestellt - daraus, daß die Aufspaltung von genetisch bestimmten Merkmalen durch die besondere Form der Geschlechtsdeterminierung bei den Hymenopteren an den ♂♂ unmittelbar sichtbar gemacht werden kann. Die Verhältnisse liegen hier also ähnlich wie bei der Endospermanalyse an Coniferensamen. Diesen gegenüber hat jedoch *D.pini* als Testobjekt noch einen ganz wesentlichen Vorzug: der haploide Zustand der ♂♂ bleibt über die ganze Lebensdauer der Individuen erhalten, es ist also nicht nur ein sehr beschränkt ausgedehntes Gewebe mit erwartungsgemäß ganz extremer Spezialisierung der Genaktivitäten haploid, sondern es treten alle diejenigen Genaktivitäten, die im Laufe der Ontogenese in allen Organen des diploiden Organismus, der ♀♀ also, entfaltet werden, ebenso auch bei den haploiden ♂♂ auf. Einzige Ausnahme machen hierbei diejenigen Genaktivitäten, die differentiell zur Ausprägung der

sexuellen Merkmale und Funktionen beitragen oder als ihre Folgen erscheinen. Das Objekt bietet somit die Möglichkeit, die gesamte Epigenetik der vollständigen Individualentwicklung sowohl an haploiden wie auch an diploiden Individuen zu beobachten. Wenn dabei Gene (oder, wie z.B. bei der Honigbiene, Allelenkombinationen; CZIHAK et al., Ed. 1976, Kap. 3.5.2) beobachtet werden, die die Ausprägung der Geschlechter bedingen, dann sind diese unmittelbar interpretierbar.

Weil die Entwicklungsstadien, insbesondere die im Modellversuch verarbeiteten, auch noch durch gut erkennbare Merkmale (EICHHORN 1976 und 1977) signalisiert werden, steht die epigenetische Interpretation von Expressionsschwankungen auf einer klaren Basis. Diese Sicherung der Interpretation durch

1. die überschaubaren einfachen Genomverhältnisse,
2. die morphologischen Parallelen zur jeweils beobachteten Bandenexpression,

erlaubt eine verlässliche Wertung der Interpretation von Isoenzymmustern.

Obgleich bis zur Durchführung dieses Versuchs *D. pini* als Objekt für Isoenzymanalysen in der Literatur nicht bekannt ist, gibt es auch aus früheren Experimenten Ergebnisse, die die Interpretation stützen. Z.B. wird bei MUHS (1975, I und III) zur Untersuchung von *Drosophila-melanogaster*-Selektionslinien ein (von WRIGHT 1963 - angeführt bei MUHS 1975 - beschriebener) Genort ebenfalls der unspezifischen Esterasen eingesetzt; er ist durch zwei allelische Isoenzyme markiert, die als zwei codominante Banden, S und F, sichtbar werden. Die beiden Objekte, *Drosophila* und *Diprion*, gehören als Dipteren bzw. Hymenopteren derselben Ordnungsgruppe, den holometabolen Insekten, an. Damit stehen sie einander so nahe, daß die Parallelen im Verhalten der Isoenzymbanden ihrer unspezifischen Esterasen ohne weiteres auch genetisch parallel interpretiert werden können, zumal es keine Beobachtungen gibt, die in irgendeiner Form dagegen sprechen würden. Man kann also die beiden Esterase-Gene X und Y mit ihren je zwei

Allelen S und F in diesem Sinne als beschrieben ansehen, wobei es noch einer Bestätigung durch umfangreicheres Material bedarf. Eine andere Interpretation kann auf der vorliegenden Basis ausgeschlossen werden. Die gegebene Interpretation, nach der die beiden Bandenpaare X und Y von je einem Genort codiert werden, dessen Aktivität im Zusammenhang mit den Stadien der Individualentwicklung gesteuert wird, wird dadurch, daß die Banden synchron mit dem morphologischen Wechsel der Entwicklungsstadien erscheinen bzw. verschwinden, gesichert.

So eine cyklophysische Steuerung - obgleich nicht so scharf ausgeprägt wie bei *Diprion* - gibt MUHS (1975) auch für die Est-6-Banden an: in 1 bis 8 Tage alten Fliegen erschienen sie, verglichen mit den übrigen Entwicklungsstadien, in bester Ausprägung.

Der Umstand, daß weibliche Individuen, die an den beiden hypothetisch beschriebenen Loci homozygot sind, nicht gefunden wurden, erinnert an den Modus der Geschlechtsdeterminierung bei der Honigbiene: diploide an beiden Loci Homozygote, oder diploide mit dem F-Allel an beiden Loci könnten letale Männchen sein. Wegen der insgesamt beobachteten relativen Seltenheit der F-Allele wäre eine solche Interpretation allerdings bei weitem nicht hinreichend unterstützt und kann deshalb nur als Möglichkeit angedeutet werden. Dieser Hinweis ist jedoch insofern von Wert, als er deutlich macht, wo die Möglichkeiten und die Grenzen der Aussage des Modellversuchs zu sehen sind. Auch bei MUHS (1975, I und III) wird übrigens das Est-6^F-Allel nur sehr selten (an 3 von 256 Fliegen der Referenzlinie bzw. von 2304 Fliegen des gesamten Versuchs) beobachtet, und zwar nur in heterozygoten Individuen. Auch in diesem Fall ist eine Analyse der genetischen Bedeutung der Populationsstrukturen bezüglich dieses Genorts, etwa unterschiedlicher Selektivität der verschiedenen Allele, nicht möglich.

Welche Bedeutung die einzelnen Aktivitäten der verschiedenen Esteraseloci (auch derer, die für die "unscharfen Zonen" codieren) für die Entwicklung der Blattwespe haben, wird nicht geklärt (und war auch nicht Gegenstand des Versuchs). Dagegen kann gezeigt werden, daß die beobachteten Marker tatsächlich (aufgrund der angegebenen logischen Schlüsse aus den Ploidieverhältnissen plausibel wenn auch ohne rechnerische Sicherung) die geforderten Eigenschaften von "primären Produkten der Gen-spezifischen Ribonukleinsäuren" (vgl. Abschn. 41,2 - S.99) zeigen. Ihre Segregation erlaubt also eine genische Interpretation und schließt (mit der dem Umfang des vorliegenden Materials entsprechenden Sicherheit) andere Interpretationen aus. Es konnte daher angenommen werden, daß die angewendete Technik die Darstellung "nativer" Isoenzyme der Esterase grundsätzlich nicht ausschließt, daß sie also nicht grundsätzlich nicht reproduzierbare Artefakte induziert. Daß sich reproduzierbare Isoenzyymmuster der Esterasen (und wohl auch der übrigen getesteten Enzyme) aus Extrakten von vegetativem Douglasienmaterial nicht darstellen lassen, erweist sich somit als charakteristische Eigenschaft dieser Extrakte und nicht der Elektrophoresetechnik. Es liegt nahe anzunehmen, daß die bei LOOMIS (in LOWENSTEIN, Ed. 1969) beschriebene Denaturierung der Proteine durch phenolische Inhaltsstoffe der Vakuolen der ausdifferenzierten Zellen im Falle der Douglasie durch die getesteten (in der Arbeit nicht referierten) Extraktionsmethoden eben nicht hinreichend regelmäßig verhindert wird. Durch die vollständige Parallelführung der beiden Objekte wurde erneut aber besonders schlüssig im Experiment demonstriert, daß der Uebertragung der Methode auf das biochemisch völlig anders gelagerte Objekt eine Anpassung, in diesem Falle der Verfahren zur Stabilisierung der "nativen" Proteine im Extrakt vorausgehen muß.

Da diese Aufgabe bisher ungelöst ist, kann die Methode nur soweit angewendet werden, als sich einzeln identifizierte Isoenzymmuster (z.B. im Kreuzungsexperiment) mit hinreichender Sicherheit auf die genetischen Ursachen ihrer Ausprägung zurückführen lassen.

Es muß hier noch eine Anmerkung zu der "nicht unmittelbar genetisch bedingten Variation der Phänotypen" (Punkt 3) in Abschnitt 31,13.) gemacht werden. Diese Wendung ist deshalb nicht besonders befriedigend, weil die an *D.pini* beobachteten entwicklungsphysiologisch bedingt schwankenden Isoenzymmuster so offensichtlich auf das Ein- bzw. Abschalten von Genen zurückgeführt werden können. Insofern sind sie doch genisch bedingt. Die Wendung kann aber aus den nachfolgenden Gründen beibehalten werden. Die Auslösung für den Übergang von einer Ruhephase, welche die in den Kokon eingespinnene Larve als "Eonymphe" über längere Zeit (einige Jahre) einlegen kann, zur Fortsetzung der Entwicklung (Verpuppung), geschieht durch einen Umweltreiz: eine Langtagbehandlung während einer kritischen Phase des letzten Larvenstadiums verhindert die "verlängerte Diapause" (EICHHORN 1976 und 1977 sowie mündlich). Im Gegensatz zu einer großen Zahl anderer Tiere, für die Umwelteinflüsse eine wesentlich geringere Tragweite haben (wie beispielsweise die Schlüpftermine zahlreicher Insektenarten je nach dem Überschreiten einer spezifischen Temperatursummschwelle um Tage verschoben werden können, bei denen also die Dauer der Abfolge der Entwicklungsstadien weitgehend festliegt und nur in einem relativ engen Bereich schwanken kann), wird bei *D.pini* der natürlich ebenfalls genetisch fixierte Entwicklungsablauf durch einen Umweltreiz wesentlich stärker beeinflusst. (Nur in diesem Sinne soll die oben apostrophierte Wendung verstanden werden.) Diese wesentliche Beeinflussung der Freisetzung der für die Metamorphose entscheidenden Abfolgen von Genaktivitätsmustern durch klimatische Faktoren verdient im Zusammenhang dieser Arbeit deshalb Erwähnung, weil gerade bei Pflanzen und besonders auch bei Bäumen ähnliche Auslöser als entscheidend bezüglich des Umfanges, in welchem sich

Knospenprimordien zu Blüten oder zu Blattknospen entwickeln, bekannt sind oder unterstellt werden (z.B. ALLEN und OWENS 1972, Chap. 2). In diesem Zusammenhang sei nochmals auf die kritischen Anmerkungen zu FERET (1974) - S. 102 unten - verwiesen.

42,12 Die Vorversuche mit Douglasienmaterial

Der Test an KO (Abschnitt 31,21.1) zeigte, wie beschrieben, Musterschwankungen, die sich nur als jahreszeitlich korrelierte Genaktivitätsschwankungen, also als epigenetische Effekte, deuten ließen. Allerdings ist es am pflanzlichen Objekt eben nicht möglich, diese mit einem äußerlich erkennbaren Entwicklungszustand zu korrelieren. Es muß angenommen werden, daß der Zeitpunkt des Erscheinens bzw. Verschwindens der Banden der "Gruppe 3)" (siehe Seite 16) in gleicher Weise von der Witterung der Jahreszeit abhängt wie das Einsetzen bzw. Aufhören der physiologischen Aktivitäten der Vegetationsperiode, natürlich auch wie der Zeitpunkt, in dem die im vorigen Abschnitt angesprochene Entscheidung über die Qualität der Knospen (vegetativ oder generativ) fällt. Ob die erscheinenden bzw. verschwindenden Banden Allozyme sind, kann - wegen der in Abschnitt 41,3 dargelegten Gründe - auf dem Wege des "herkömmlichen Verfahrens der Zymogrammbewertung" (Abschnitt 22,5) grundsätzlich nicht entschieden werden. Unterschiede wie die zwischen den Eltern gezielter Kreuzungen (Abschnitt 31,21.2) machen das alleine schon dadurch deutlich, daß die Banden ihrer Muster sich anders auf die drei Gruppen (siehe Abschnitt 31,21.1) aufteilen als bei KO. Es ist zu erwarten, daß die unterschiedliche Angepaßtheit verschiedener Individuen (Genotypen) darin zum Ausdruck kommen kann, daß sie dasselbe Gen zu verschiedenen Zeitpunkten, nach Aufnahme quantitativ verschiedener Reize also, "einschalten". Auch wenn der Unterschied zwischen diesen Individuen nur in ihrem Regulationsverhalten und nicht in der Ausstattung mit verschiedenen Strukturgenen besteht, läuft man Gefahr, aus gleichzeitig geernteten Proben, z.B. einer unbekannten Population, Fehlinterpretationen der genetischen Konstitution vorzunehmen. Kommen dann noch unterschiedliche Allelenkonstitutionen vor, dann besteht bei unbekanntem Material

keine Aussicht, eine zutreffende Interpretation alleine durch Zuordnung "herkömmlich" bestimmter Muster zu erreichen. An den Mustern des Gewebekultur-Vorversuchs (Abschnitt 31,22.) wird dies ganz offensichtlich: die epigenetische Relevanz der Musterverschiebungen konnte hier überhaupt nicht analysiert werden, so daß eine Zuordnung "herkömmlich" definierter Muster zu genischen Ursachen offensichtlich zu Fehlern führen müßte. Alle bisher in der Diskussion angeführten Gesichtspunkte weisen auf die Notwendigkeit hin, "elektromorphe Phänotypen" ganz bewußt als solche anzusehen (KING 1977), und die genetische Interpretation auf einer ausreichend gesicherten genetischen Analyse aufzubauen. Während das Modellexperiment die Möglichkeiten der speziellen Methode vor Augen führt, demonstriert das Douglasien-Vorversuchsergebnis die theoretisch und an ähnlichen Objekten experimentell begründete Notwendigkeit dazu auch am speziellen Objekt.

Die Aussage der Diskussion bisher kann in der folgenden Formulierung zusammengefaßt werden: trotz (wegen) der grundsätzlichen Gültigkeit der "Ein Gen-Ein Enzym-Hypothese" (schärfer als "Ein Allel-Ein Polypeptid-Hypothese" zu bezeichnen) ist es nicht zulässig, aus einem beliebigen, temporär festgestellten Isoenzymmuster die genetische Konstitution eines Individuums ableiten zu wollen, solange die genetische Kontrolle der einzelnen Merkmale (Isoenzymbanden) nicht mit ausreichender Genauigkeit, insbesondere unter Berücksichtigung von Regulationsvorgängen, am Objekt demonstriert worden ist. So trivial die Erkenntnis in dieser Formulierung erscheint, so notwendig ist ihre Feststellung und Berücksichtigung bei der Darstellung von Versuchsergebnissen: wenn heute (Beispiele in Abschnitt 41,3) nach Anwendung des "herkömmlichen Verfahrens der Zymogrammbeurteilung" durch den Einsatz glaubwürdiger Hypothesenkomplexe, die explizit angeführt oder stillschweigend als zutreffend angenommen werden, Genotypen aus Stichproben unbekannten Materials beschrieben werden, dann wird hier wieder - nur auf einem methodisch höheren Niveau - derselbe grundsätzliche Fehler gemacht, der bereits vor fast einem Vierteljahrhundert von MARQUARDT (1955) als Anwendung des "forstlichen Götterblickes" anstelle des wissenschaftlichen Experiments angeprangert wird.

Die Vorversuche wiesen darauf hin, daß die Annahme, Peroxidase-Isoenzymbanden seien als "unmittelbare Genprodukte" zur individuellen Klassifizierung von vegetativem Douglasienmaterial geeignet, durchaus kritisch gesehen werden muß, und daß ihre Eignung an dem speziellen Objekt mit der speziellen Methodik und speziell für jede einzelne Bande durch eine genetische Analyse geprüft werden muß.

42,2 Der Hauptversuch

42,21. Die Nadelextraktmuster

Der Nadelextrakt-Test sollte zunächst die Feststellung ermöglichen, ob die für eine genetische Analyse notwendige Variation der Isoenzymmuster im verfügbaren Material gefunden werden konnte. Dazu war an der aufgefundenen Variation der Versuch der genetischen Analyse durchzuführen. Im Gegensatz zum Modellobjekt gab es hier nicht die Möglichkeit, die Merkmalsaufspaltung an haploidem Material zu beobachten; es war aber möglich, aus den verschiedenen diploiden Kombinationen entsprechend der Kenntnis der in Abschnitt 21,22. erklärten engen verwandtschaftlichen Beziehungen Rückschlüsse über die Vererbung der Muster zu ziehen. Ein Maß an Sicherheit, wie es bei der Aufspaltungsbeobachtung am haploiden Organismus erreicht und das bei der Blattwespe zusätzlich durch Synchronisation mit gut feststellbaren morphologischen Zustandsmarkern erhöht wird, sollte bei der Douglasie durch das zusammenhängende Kreuzungsschema (Seite 5) angestrebt werden. Als Anhaltspunkt für die Synchronisation der Aktivität der beobachteten Genorte diente hier nur der gemeinsame Zeitpunkt der Materialgewinnung (siehe Abschnitt 41,4, Seite 111 und Abschnitt 42,12). Es wurde erwartet, daß sich sachlich falsche Hypothesen dadurch anzeigen, daß die Versuchsdaten signifikante Abweichungen von den Erwartungswerten nach Mendel-Aufspaltung wenigstens in einem Teil des Materials erbringen, welche sich nicht im Sinne der Hypothese begründen lassen, daß also Irrtümer, die nach den experimentellen Spaltungszahlen der einen oder anderen Kreuzung möglich sind, durch die Spaltungszahlen aus anderen der 12 Kreuzungen im vorliegenden System (Seite 5) entdeckt und widerlegt werden. In der Tat ließ sich für 5 von 9 untersuchten Banden jeweils

nur eine einzige genetische Interpretation finden, die jedem der 103 Individuen einen Genotyp zuordnet, und die gleichzeitig die beobachtete Merkmalsaufspaltung zuläßt. Nur in einigen Fällen ergaben sich durch die geringe Häufigkeit von Allelen Alternativzuordnungen bei der Interpretation einzelner Genotypen.

Für die restlichen 4 Banden wurde eine glaubhafte genetische Interpretation nicht gefunden. Das kann eine Reihe von Ursachen haben, die im Prinzip oben bereits dargelegt sind (Abschnitt 41,3). Wahrscheinlich kommt in diesen genetisch nicht interpretierbaren Banden eine multifaktorielle Bedingtheit der elektromorphen Phänotypen und die physiologische Notwendigkeit der Regulation der Aktivitäten der einzelnen Isoenzyme besonders deutlich zum Ausdruck. (s.auch Abschnitt 42,21.2); dies würde bei einer so lebenswichtigen Enzymgruppe wie der der Peroxidasen nicht verwundern.

42,21.1 Die Chimären-Hypothese für den Elter D

Einer besonderen Beachtung wert erscheint die Interpretation der genetischen Basis für das Erscheinen der Banden e, g und $\emptyset$ beim Elter D und seinen Nachkommen. Bei diesem Teil des Versuchs wurde so verfahren, als genügten bereits die 10 Kreuzungen, die ohne Beteiligung des Elters D ausgeführt worden waren, um die genetische Hypothese glaubhaft zu unterstützen. Geht man davon aus, daß nach COCHRAN (1954) die angewendeten Chiquadrattests auch bei manchmal geringen Erwartungswerten eine hinreichende Unterstützung für die Ablehnung falscher Hypothesen erbracht hätten, dann ist die getroffene Annahme vertretbar. Darauf baut die Notwendigkeit auf, das Verhalten der Spaltungszahlen in den Kreuzungen mit D zu erklären. Will man die Möglichkeit eines "Ausreißers" (z.B. durch einen groben Versuchsfehler bei der Materialbeschaffung in Kreuzung DC) nicht in Betracht ziehen, dann bietet sich die vorgeschlagene Interpretation, nach der D als Chimäre aus drei verschiedenen Genotypen (an dem betreffenden Genort) anzusehen ist, als

Lösung an (Abschnitt 32,12.1: S. 36). Der Vorgang der reziproken mitotischen Rekombination (CZIHAK et al. Ed. 1967, Kap. 2.4.6), der als Voraussetzung dafür angenommen wird, wurde im Jahre 1936 an *Drosophila* entdeckt und seither an mehreren Modellobjekten wie *Aspergillus nidulans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Ustilago maydis* sowie an Mäusen (alle ref. bei SCHWAIER, 1967) beschrieben. Eine direkte Nachweismethode, wie sie SCHWAIER (1967) mit einer Tetradenanalyse an diploiden Hefe-Rekombinanten mithilfe von gekoppelten Defektallelen und Farbmarkern vorstellt, kann am vorliegenden Material nicht vorgenommen werden. Dazu wären weitere Untersuchungen anzustellen, die Informationen über Kopplung des untersuchten Genorts mit anderen Markern erbringen. Den einzigen Anhaltspunkt für die Hypothese bietet also die Aufspaltung der Banden bei den Nachkommen der Kreuzungen DB und DC (in Verbindung mit der Glaubwürdigkeit der genetischen Hypothese für die Banden e, g und ϕ), welche allerdings vom Prinzip her ebenso überzeugend ist wie die direkte Analyse der Rekombination in Kopplungsgruppen.

Ueber die Häufigkeit, mit der mitotische Crossing-over in Douglasie zu erwarten sind, kann zwar keine experimentelle Evidenz angeführt werden, doch ist anzunehmen, daß bei der ungeheuren Zahl an Mitosen, die seit der Entstehung der "Zygote D" bis zur Materialentnahme nach 90 Jahren in den Meristemen stattgefunden haben, die Entdeckung eines solchen Falles sehr wahrscheinlich sein wird.

Alle Versuche, Widersprüche aus anderen, im Testverfahren (Abschnitt 32,12.1) abgelehnten genetischen Hypothesen auf entsprechende Art zu deuten, brachten keine glaubwürdige Erklärung. Auch das stellt eine weitere indirekte Stütze zugunsten der Chimären-Hypothese für D dar.

42,21.2 Zur Frage der Dominanz zwischen Isoenzymbanden

Alle gefundenen Hypothesen (Abschnitt 32,1) unterscheiden sich von den an Allozymen meistens erhaltenen Befunden in einem auffälligen Aspekt: fast immer werden - wie auch in

dieser Arbeit an *Diprion pini* - codominante Allele beobachtet, die für die Isoenzymbanden codieren. Es ist auch nicht einzusehen, wie ein biochemischer Mechanismus funktionieren könnte, bei dem ein Strukturgen (also ein DNS-Abschnitt, durch dessen Nukleotidsequenz die elektrophoretischen Wanderungseigenschaften eines Proteinmonomers bestimmt werden) die Realisierung seines Allels verhindert.

Im Falle derjenigen Genloci, die für die Bandenpositionen b bzw. h codieren (Abschnitt 32,12.2), ist die Erklärung trivial: das häufig in anderen Arbeiten referierte "Nullallel" (= silent allele), das kein (bei der betreffenden Methodik aktives) Enzym produziert, führt bei Codominanz zum selben Aufspaltungsergebnis der Phänotypen wie bei Behandlung als rezessives Allel. Seine Codominanz kann nur dann festgestellt und von Rezessivität unterschieden werden, wenn die für das Nullallel heterozygoten Individuen eine um 50% verminderte Gesamtaktivität des korrespondierenden Enzyms gegenüber den für die "Plusvariante" homozygoten aufweisen. Eine quantitative Studie wurde nicht ausgeführt, deshalb wird die hier rein phänomenologische Auffassung " $b \times \emptyset$ " und " $h \times \emptyset$ " beibehalten. Dies besagt weiter nichts, als daß die Bande b bzw. h immer dann erscheint, wenn das Protein für diese Peroxidase an mindestens einem der beiden homologen Genloci synthetisiert wird, und daß eine Interaktion mit dem homologen Gen (Allel) nicht stattfindet, und daß auch eine andere unabhängige phänotypische Wirkung desselben nicht festgestellt wurde. An diesem Befund ändert sich auch nichts, wenn codominant zu der beobachteten "Plusvariante" außerhalb des beobachteten Zymogrammausschnittes eine Bande aufträte, die bloß nicht registriert worden ist.

Für die Bandenposition a (Abschnitt 32,12.31) wird wegen deren Seltenheit auf eine über die Ergebnisdarstellung hinausgehende Diskussion verzichtet. Hier kann es nur unter beträchtlicher Erweiterung des Versuchsmaterials insbesondere durch Selbstungs- und/oder Rückkreuzungsnachkommen erreicht werden, zu einer Aussage mit ausreichender Sicherheit zu kommen.

Falls die genetische Hypothese für die Bandenpositionen e und g zutrifft, ist für das Dominanzverhalten dieser Banden eine Erklärung erforderlich. LUCOTTE et al. (1977) beschreiben an Leucinaminopaptidasen eines Hybrids zwischen dem Haushuhn (*Gallus gallus domestica*) und der japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) ein Paar von homologen Banden, von denen beide im Hybrid nachgewiesen werden, wobei jedoch die der Wachtel gegenüber der des Haushuhnes "prädominant", d.h. wesentlich intensiver erscheint. Sie interpretieren diese Erscheinung als Folge eines nicht näher spezifizierten Regulationsmechanismus: "...the LAP show an unambiguous predominance of one of the parental components in the adult hybrid. Such quantitative differentiation in proportions of parental components is an indication of a particularly strong regulation of the phenotype expression" (Zitat aus LUCOTTE et al. 1977). Über einen ähnlichen Fall quantitativ unterschiedlicher Expression berichten SALCEDO et al. (1978) an zwei allelischen, hydrophoben Endospermproteinen aus tetraploidem Weizen: aus den Segregationsverhältnissen in Eltern, reziproken F₁- und aus F₂-Nachkommen erhalten sie eine Bestätigung für die genetische Kontrolle und außerdem das Ergebnis, daß das eine der beiden Proteine, verglichen mit dem anderen, stets in einer Menge von nur 50% bis 65% je Homolog produziert wird. Die beobachtete Segregation erlaubt die Deutung, daß als Ursache für die quantitativen Unterschiede außer Verschiedenheiten der beiden Strukturgene auch gekoppelte Regulatorgene in Betracht kommen. Die Beobachtung von FERET (1972), daß sich bestimmte Segregationszahlen der Peroxidasebanden von Ulmen-Hybriden durch Dominanz erklären lassen, wurde bereits oben (Abschnitt 41,4) referiert.

Es liegt nahe, auch den beobachteten Effekt der vollständigen Dominanz als einen Regulationseffekt zu deuten. Zwar ist an höheren Organismen bisher kein Beispiel eines Regulationsmechanismus im Sinne etwader verschiedenen Varianten des Jacob-Monod-Modells nachgewiesen bzw. hinsichtlich seiner biochemischen Mechanismen durchanalysiert worden, doch sind bei CZIHAK et al. (Ed. 1976, Kap. 2.7) Beispiele bekannt, die Anhaltspunkte für die Wirkung grundsätzlich ähnlicher Prinzipien auch dort geben. Abstrahiert man den gedanklichen Ansatz, der dem Jacob-Monod-Modell zugrundeliegt, dann erweist sich dies für das Verständnis des in dieser

Arbeit vorliegenden Falles dominant/rezessiver Phänotypen-segregation als hilfreich; auch ist es damit möglich, den Dominanzeffekt zwischen Isoenzymbanden (auf dem Niveau plausibler Spekulation) allgemeingültig auf Genregulationsprinzipien zurückzuführen, gleichgültig, welcherart die biochemischen Prozesse im Ablauf des Regulationsvorganges sind. An die Stelle des speziell definierten, biochemisch beschriebenen Operons wird eine allgemeine, dem Operon analoge Funktionseinheit, das "Operon-Analogon" (im Folgenden abgekürzt OA) gesetzt. Es wird (analog zum Operon, das eine räumliche Einheit aus einem Regulatorgen, einem Operatorgen und einem oder mehreren Strukturgenen besteht) in drei Funktionskomponenten (ohne Rücksicht auf deren räumliche Anordnung) gegliedert: in eine regulierende Komponente (R), eine rezipierende, dem Operator analoge Komponente (O), durch die aufgrund des Einflusses von R die Realisierung der Strukturkomponente (S) in Gang gesetzt wird oder nicht. Für jede der drei Komponenten ist eine Zusammensetzung aus der Wirkung mehrerer Gene denkbar. Der einfachste Fall, in dem jede wie bei dem Jacob-Monod-Modell aus einem Gen besteht, genügt zur Erklärung des Dominanzphänomens bei Isoenzymbanden: auf derselben Basis wie für S sind für R und O verschiedene homologe Formen anzunehmen. Zur Funktionseinheit zusammengefaßt kann man also von homologen bzw. allelischen OA sprechen, die im vorliegenden Fall (Abschnitt 32,12.1) mit e, g und $\emptyset$ bezeichnet werden. Die Schreibweise für die Komponenten ist folgende:

$$\begin{aligned} e &=: (R^e, O^e, S^e) \\ g &=: (R^g, O^g, S^g) \\ \emptyset &=: (R^\emptyset, O^\emptyset, S^\emptyset) \end{aligned}$$

Diese OA sind gleichzeitig die Darstellung der Genotypen aller im Experiment (hypothetisch) aufgetretenen Gameten an dem beschriebenen Genlocus. Abweichend vom Jacob-Monod-Modell wird nun nicht angenommen, daß ein R durch die Aktivierung oder Inaktivierung des O im eigenen OA die Realisierung des Enzymproteins am Strukturgen seines eigenen OA steuert, sondern daß sein Produkt die Funktion des O und damit des S nur eines bestimmten homologen OA steuert: R^e soll z.B. für ein Protein codieren, das weder an O^e noch an $O^\emptyset$ angreifen kann, das aber O^g blockiert, so daß an S^g keine Proteinsynthese in Gang kommt. Entsprechend verhalten sich die anderen R. Drückt man - wie bisher die Dominanz zwischen Phänotypen - diese Beziehung durch das Größer- (Kleiner-)Zeichen aus, kann man sie so schreiben:

$$\begin{aligned} R^e &> (O^g, S^g) \\ R^g &> (O^\emptyset, S^\emptyset) \\ R^\emptyset &> (O^e, S^e) \end{aligned}$$

Eine derartige Funktionsspezifität ist ohne weiteres durch spezifische sterische Eigenschaften der allelischen Regulatorprodukte in Verbindung mit denen des korrespondierenden O

erklärbar bzw. vorstellbar. Einen solchen Mechanismus kann man sich als biologisch sinnvoll vorstellen, indem man sich vergegenwärtigt, daß es nicht unbedingt einen Vorteil bedeuten muß, wenn von einem Genlocus beide Allozyme realisiert werden: es ist ja gut möglich, daß beide Allozyme selektiv annähernd gleichwertig wirken, daß aber, würde das Enzym an beiden homologen OA produziert, das Wirkungsoptimum beispielsweise der speziellen Peroxidase zu breit wäre, um einen optimalen Ablauf des unter ihrer Mitwirkung gesteuerten Sektors des Zellmetabolismus zu gewährleisten. Innerhalb des OA ist eine Genkoppelung zu erwarten, die umso enger sein wird, je stärker der Selektionsvorteil ist, den der Träger in der beschriebenen Weise regulierter Genkomplexe (OA) genießt.

Besonders hervorgehoben muß es werden, daß es nicht homologe Gene nach biochemischem Begriff sind, durch deren Wechselwirkung die "Dominanz zwischen Banden" zustandekommt, sondern daß homologe Funktionseinheiten, die aus je mehreren Genen verschiedener Funktionsweisen bestehen, miteinander interagieren; Dominanz zwischen allelischen Genmarkern ist somit keine Folge von Eigenschaften der zugehörigen allelischen Strukturgene, sondern eine phänotypische Folge der Interaktion nichtallelischer Gene.

Das ist in der Dominanz-Begriffsbestimmung bei RIEGER et al. (1968) berücksichtigt; wenn dort dennoch von "dominanten", "codominanten" und "recessiven" Genen (Allelen) die Rede ist, dann kann damit eben nur ein dem phänotypischen Marker zuzuordnender Genkomplex ("Genlocus") gemeint sein.

Versteht man also den Begriff des OA in diesem Sinne nicht als Spekulation über biochemische Details, sondern abstrakt als Mittel zur Kategorisierung derselben, dann leistet es einen Beitrag zur begrifflichen Klärung der Vorstellung über Dominanzmechanismen auf molekularem Niveau. Auch zu den oben zitierten Beispielen unvollständiger Dominanz lassen sich dann einleuchtende Spekulationen formulieren.

Experimentell gut fundiert ist die Darstellung eines Falles von "Prädominanz" bei EFRON (1970) zwischen zwei Isoenzymbanden der Alkoholdehydrogenase im Mais. Hier werden die Wanderungseigenschaften je einer "slow-" und "fast-Bande" durch den von EFRON so benannten Genort Adh_1 bestimmt. Ein Regulatorgen Adh_r kommt mit ebenfalls zwei Allelen vor, von denen das eine keinen Einfluß auf die beiden Isoenzymbanden hat, das andere aber die Aktivität des Adh_1^S -Allels oder auch des nach ihm gebildeten Monomers um 60% vermindert. Das Regulatorgen und das Strukturgen werden mit einem Abstand von ca. 17 crossing over units innerhalb derselben Kopplungsgruppe gefunden. Die Regulatorwirkung tritt sowohl in

cis- als auch in trans-Konfiguration auf. EFRON faßt diesen Effekt als analog zum Jacob-Monod-Modell des β -Galaktosidase-Operons bei *Escherichia coli* auf, ohne die biochemischen Funktionen zu berühren. Daß diese im Mais aller Voraussicht nach wesentlich kompliziertere Details aufweisen werden als beim Bacterium *E. coli* ist nach den bei SONNENBICHLER (1979) referierten Erkenntnissen über die Chromosomenstruktur höherer Organismen selbstverständlich.

Parallel zur Darstellung von EFRON interpretiert PARK (1977) seine Beobachtungen an der F1-Segregation einer Peroxidase-Isoenzymbande K aus *Pinus densiflora*: die Bande K erscheint, sofern zwei Voraussetzungen erfüllt sind:

1: das Strukturgen P_{x2} muß das Allel P_{x2}^k mindestens heterozygot tragen, und

2: ein "Regulatorgen R/r" muß homozygot für das Allel r sein.

Sind diese beiden Bedingungen nicht gleichzeitig erfüllt, erscheint die Bande K nicht.

Diese beiden Evidenzen aus Untersuchungen an höheren Pflanzen liegen parallel zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit: wie bei EFRON wurde in der OA-Interpretation die Wirkung eines Regulators in trans-Konfiguration angenommen, welcher mit dem Strukturgen eng gekoppelt sein sollte. Wie bei PARK ist die Dominanzwirkung eine vollständige (es handelt sich um dieselbe Enzymgruppe in Angehörigen derselben Gymnospermenfamilie). Daß die Kopplung nur zwischen bestimmten "Allelen" der drei qualitativ verschiedenen Funktionselemente eines OA beobachtet wurde, konnte durch die Annahme einer selektiven Wirkung dieser Kombinationen plausibel gemacht werden. (Auch EFRON weist auf die mögliche selektive Bedeutung der Regulation der Enzymaktivität besonders hin).

Als außerordentlich wichtiges Ergebnis dieses Kapitels ist herauszustellen, daß neben logischen Überlegungen auch experimentelle Befunde zugunsten der Annahme vorliegen, Dominanzphänomene zwischen Isoenzymen seien allgemein auf genetische Regulationsvorgänge zurückzuführen, und zwar auch bei höheren Organismen.

Im Zusammenhang mit den in Abschnitt 41,3 dargestellten Besonderheiten der Peroxidase kann für die drei logischen Funktionskategorien innerhalb des OA jeweils eine polygenische bzw. multifaktorielle Basis angenommen werden, so daß auch hierdurch quantitative Effekte denkbar werden.

Am Rande sei darauf hingewiesen, daß gerade bei Interspezieshybriden in solchen Fällen durch Interaktion von Genorten, die

im Normalfall nicht in einem Genom vereinigt wären, Dominanzeffekte erwartet werden müssen, die aus der Kenntnis der Isoenzymmuster der einzelnen Spezies oft nicht mehr interpretierbar sein werden, oder die umgekehrt, bei Verwendung geeigneten Materials und eines angemessenen Versuchsplanes wesentlich zur Klärung der Mechanismen beitragen können. Für die in-vitro-Hybridisierung eröffnen sich damit beachtenswerte Probleme und auch Möglichkeiten.

42,22. Zur Interpretation der Callusmuster

Nach der ausführlichen Darstellung der im Detail recht unübersichtlichen Ergebnisse des Versuchs mit Callusmaterial aus der gelenkten Douglasienkreuzung, die eine Wertung bereits beinhaltet, soll hier nicht mehr viel hinzugefügt werden. Es ist ganz selbstverständlich, daß es die Methode in der ausgeführten Form mit Gewebekulturen nicht ermöglicht, die zu Anfang der Diskussion (Abschnitt 41,4) gesetzten Ziele unmittelbar zu erreichen. Der Versuch hat aber eine Fülle von Problemen am Objekt eröffnet, deren Beachtung außerordentlich wichtig ist, will man die Methode seriös einsetzen. Die im Nadelmaterial gefundenen, nach Mendel interpretierbaren Bandenmuster werden von Genen gesteuert, deren Wirkung im Callusmaterial nicht wiedergefunden oder wiedererkannt werden kann. Dennoch ergeben die Daten nach der Darstellung im Abschnitt 32,22. einige deutliche Hinweise auf ihre genetische Interpretierbarkeit.

Wendet man das im vorangegangenen Abschnitt allgemein entwickelte Modell auch auf die Muster der Callusextrakte an, dann wird es wegen deren "quantitativer" Ausprägung deutlich, warum es sinnvoll war, für die drei Funktionskomponenten des OA jeweils eine polygenische bzw. multifaktorielle Basis anzunehmen.

Die Beobachtung von Dominanz an den Isoperoxidasen der Nadeln, besonders aber die Variation der Callusextrakt-Isoperoxidasemuster zeigen an, daß es auch bei Verwendung von Isoenzymen, von denen sich einige in einer Reihe von Experimenten als Genmarker erwiesen haben, unbedingt verlangt werden muß, daß diese Eigenschaft für den zur Anwendung vorgesehenen Spezialfall zuvor geprüft wird.

43, Schlußbetrachtung

Das besondere Problem dieser Untersuchung bestand in der Verwendung von vegetativem, diploidem Material eines genetisch völlig unbekannten Objekts für eine genetische Analyse mithilfe einer Methode, die an das Objekt erst noch angepaßt werden mußte.

Die verwendete Enzymgruppe der Peroxidasen erwies sich erwartungsgemäß als ein problematisches Hilfsmittel. Ihre Verwendung bewährte sich jedoch besonders zu dem Zweck, eine Reihe von Gesichtspunkten aufzudecken, die bei der Isoenzymanalyse oftmals nicht die notwendige Beachtung finden. Insbesondere konnte herausgearbeitet werden, daß auch dann, wenn im Spezialfall klare Aufspaltung nach den Mendelschen Regeln beobachtet wird, die Annahme, Isoenzyme seien unmittelbarer Ausdruck für die im Genom vorhandenen Enzymprotein-Strukturgene, modifiziert werden muß. In allen Teilen der Untersuchung (am haplodiploiden Modellobjekt *Diprion pini*, an Nadel- und Gewebekulturmateriale einiger willkürlich ausgewählter sowie der ca. 100 Douglasien des Kreuzungsmaterials: 9 Halbgeschwisterfamilien aus 12 - darunter 3 reziproken - Kreuzungen zwischen 6 Eltern) zeigte sich, daß auch bei reproduzierbarer Methodik keine konstanten, individualtypischen Muster erzielt werden. Das bedeutet, daß das Isoenzymmuster einer Enzymgruppe Schwankungen unterworfen ist, die mit dem vorhandenen, für diese Gruppe codierenden Strukturgenbestand nicht in unmittelbarem Zusammenhang zu stehen brauchen. Diese Beobachtung ist nicht neu, wie anhand von Literaturbeispielen gezeigt worden ist. Dennoch waren erst die hier gemachten Beobachtungen, insbesondere der Fall dominanter Isoperoxidasebanden, Anlaß, ein Funktionsmodell zu errichten, das diese Schwankungen in allgemeiner Form erklärt. In der Anwendung auf die Ergebnisse der genetischen Interpretation der Nadelisoperoxidasen bewährt es sich als brauchbare Hypothese.

Das Modell ist insofern von Bedeutung, als es - ausgehend von dem Prinzip des für *Escherichia coli* experimentell einwandfrei fundierten Jacob-Monod-Modells - erstmalig eine

allgemein formulierbare plausible Erklärung für das Auftreten von dominant/rezessiven Erbgängen bei Isoenzymbanden gibt. Zudem hat es den Vorzug, Versuchsplanungen zu ermöglichen, bei denen die Modalitäten der Isoenzymmuster-Realisierung gezielt analysiert werden können, auch wenn die physiologisch-chemischen Details ihrer Realisierung unbekannt sind. Zwar bestand diese Möglichkeit grundsätzlich bisher auch, aber es wurden häufig, da die allgemeinen Funktionskategorien bei der Analyse nicht zugrundegelegt wurden, spezielle, im Prinzip empirisch orientierte Ansätze und Erklärungen angewendet. Daß dies oft letztlich nur durch "Erfahrung" gestützt sind, so daß sie durch ebenso spezielle Gegendarstellungen entkräftet bzw. durch Alternativinterpretationen gleichwertig ersetzt werden können, wurde in der Diskussion an Beispielen demonstriert.

An den Versuchen mit Gewebekulturen wurde gezeigt, daß genetisch fixierte, individuelle Unterschiede auch an somatischem in-vitro-Material der Douglasie feststellbar sind. Die Methode reichte jedoch nicht aus, um die Phänotypenausprägung mit hinreichender Genauigkeit auf genetische Ursachen zurückzuführen. Grundsätzliche und aus der Literatur durch experimentelle Daten von anderen Objekten gestützte Ueberlegungen führten aber zu dem Schluß, daß die Induktion von organisierten Strukturen in den Calli, insbesondere ihre Redifferenzierung zu Organen oder ganzen Pflanzen eine Determinierung von Markergenen ermöglichen wird.

Dies wird besonders dann praktische Bedeutung erlangen, wenn die in-vitro-Vegetativvermehrung oder die Kreuzungszüchtung durch somatische Hybridisierung von Protoplasten in vitro auch für Waldbäume praktikabel wird, um 1) Sorten, 2) Entwicklungszustände des Züchtungsmaterials zu etikettieren.

5 ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Notwendigkeit zur individuellen Charakterisierung von Genotypen der Douglasie ergibt sich aus ihrer natürlichen Variationsbreite und aus der Bedeutung, die sie bei uns als Waldbaum hat. Es war Gegenstand dieser Untersuchung, die Isoenzymtechnik, die sich an anderen Objekten bewährt hat, auf die Möglichkeit der Übertragung auf vegetative Gewebe der Douglasie zu prüfen.
2. Als Methode wurde eine Polyacrylamidgeltechnik, die nach gängigen Verfahren adaptiert wurde, angewendet. Sie wurde an einem Modellobjekt (*Diprion pini*, gemeine Kiefernbuschhornblattwespe) und an vegetativem Material der Douglasie auf ihre Eignung getestet und kurz beschrieben. Als Eignungskriterium wurde die Reproduzierbarkeit genetisch interpretierbarer Isoenzymmuster angesehen.
3. Am Modellobjekt *Diprion pini* wurden zwei Genorte, X und Y, der unspezifischen Esterasen beschrieben. Jeder der beiden Genorte trägt zwei codominante Allele, die nach den Wanderungseigenschaften der von ihnen codierten Isoenzyme als X^F bzw. Y^F (jeweils das schneller wandernde Isoenzym, F für "fast") und X^S bzw. Y^S (S für "slow") bezeichnet wurden.
4. Die Isoenzymbanden des Genorts X erscheinen bzw. verschwinden in Abhängigkeit von den Entwicklungsstadien des Insekts, und zwar nicht zum gleichen Zeitpunkt wie die des Genorts Y. Dieser epigenetische Effekt läßt sich den Entwicklungsstadien zuordnen. Dasselbe trifft für zwei unscharfe, nicht in Bänder aufgelöste Flecken ("Zonen" Z 1 und Z 2) zu. Ihre Ausprägung wird hypothetisch mit der Reifung der Gonaden in Zusammenhang gebracht.
5. Epigenetische Schwankungen der Isoperoxidasemuster werden an Nadelmaterial von Douglasie ebenfalls beobachtet. Ihre Zuordnung zu Variationsursachen kann nicht ebenso scharf durchgeführt werden wie beim Modellobjekt.

6. An ca. 100 verwandten Douglasien (9 F1-Halbgeschwisterfamilien aus 12 - darunter 3 reziproken - Kreuzungen zwischen 6 Eltern) werden die Nadelextrakt-Isoperoxidasen der Douglasie auf ihre genetische Kontrolle untersucht. Von 9 beobachteten Banden zeigen 5 eine Segregation nach Mendelschen Regeln. Sie lassen sich hypothetisch auf 4 Genloci zurückführen.
7. Um den hypothetischen Charakter der Interpretation hervorzuheben, wird auf eine Bezeichnung der Loci nach üblicher Schreibweise verzichtet. Die Banden werden nach ihrer Position vom Start her mit Antiqua-Kleinbuchstaben bezeichnet. Erscheint keine Bande, wird an ihrer Position das Zeichen $\emptyset$ geschrieben. Alle Banden der 4 Loci unterliegen einem dominant/rezessiven Erbgang (dargestellt durch das Größer-/Kleinerzeichen). Jede der folgenden Zeilen symbolisiert einen Genlocus und seine Dominanzbeziehungen:
- $a < \emptyset$
 $b > \emptyset$
 $e > g > \emptyset > e$
 $h > \emptyset$
8. Auf diese Weise war es möglich, erstmals Isoenzym-Genloci an vegetativem Material der Douglasie zu beschreiben. Die Beschreibung ist durch Chiquadrattests und durch die gegenseitigen Bestätigungen aus den Kreuzungen gesichert. Entsprechend dem Umfang des Materials hat sie hypothetischen Charakter.
9. Ein Baum, der Elter D, wird als Chimäre aus genetisch unterschiedlichen Geweben beschrieben. Der Unterschied wird hypothetisch auf ein mitotisches crossing over zurückgeführt. Es wurde somit erstmals demonstriert, daß und wie die Folge eines mitotischen crossing over ohne Kenntnis von Koppelungsgruppen, allein aus der Aufspaltung der Isoenzymbanden in der F1, erkennbar wird.
10. Die Feststellung eines dominant/rezessiven Erbganges von Isoenzymbanden liegt parallel zu einigen wenigen zitierten Fällen; als Normalfall wäre Codominanz zu erwarten. Zur Erklärung wird ein

Funktionsprinzip formuliert, nach dem Dominanz zwischen Isoenzymbanden in einfacher und allgemeingültiger Form als Folge eines Genregulationseffektes erklärt werden kann, ohne daß die biochemischen Mechanismen des Regulationsvorganges berührt werden.

11. Die Isoenzymmuster der Gewebekulturextrakte von vegetativem Material derselben Individuen, wie unter 6. angegeben, lassen keine Zuordnung zwischen einzelnen Isoperoxidasen und Genorten zu. Durch Zusammenfassen der Banden zu Gruppen läßt sich dennoch zeigen, daß die Muster weitgehend genotypisch bestimmt sind. Der Modus der Bestimmung kann nicht geklärt werden. Es werden dafür verschiedene Interpretationsmöglichkeiten in Erwägung gezogen.
12. Eine einwandfreie experimentelle Sicherung für die genetische Interpretierbarkeit einschließlich der epigenetischen Effekte wird als grundlegende Voraussetzung für die Einsatzmöglichkeit jedes einzelnen zur Genotypenidentifizierung vorgesehenen Isoenzymmarkers gefordert. Unter dieser Voraussetzung werden der Methode hervorragende Einsatzmöglichkeiten in der modernen Forstpflanzenzüchtung, vor allem auch bei Anwendung von in-vitro-Methoden, zugesprochen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- ABRAMOWITZ, M.; STEGUN, I.A., Eds. (1974): Handbook of Mathematical Functions, Dover Publ. Inc. New York
- ALLEN, G.S.; OWENS, J.G. (1972): The Life History of Douglas Fir. Environment Canada. Forestry Service, Information, Canada Ottawa
- ALLENDORF, F.W. (1977): Electromorphs or Allels? Genetics 87 (4): 821-822
- ARNISON, P.G.; BOLL, W.G. (1976): The Effect of 2,4-D and Kinetin on Peroxidase Activity and Isozyme Pattern in Cotyledon Cell Suspension of Bush Bean (*Phaseolus vulgaris* cv Contender). Can.J.Bot. 54 (16): 1857-1867
- BARNER, H. (1973): Procurement of Douglas fir seed for Provenance Research. Proc. IUFRO, Working Party on Douglas fir Provenances, Göttingen.
- BARTELS, H. (1971): Genetic Control of Multiple Esterases from Needles and Macrogametophytes of *Picea abies*. Planta (Berl.) 99: 283-289.
- BERGMANN, Fritz (1971): Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzymidentifizierung. I. Möglichkeiten für genetische Zertifizierung von Forstsaatgut. AFJZ 142 (Jahrg. 11): 278-280.
- (1973): II. Genetische Kontrolle von Esterase- und LAP- Isoenzymen im haploiden Endosperm ruhender Samen. Theor. Appl. Genet. 43: 222-225.
- (1973): III. Geografische Variation an zwei Esterase- und zwei Leucin-aminopeptidase-Loci in der schwedischen Population. Silvae Genetica 22 (3): 63-66.
- (1973): Analysis of genetic variation in a Douglas-fir provenance by means of Isozyme polymorphisms. Proc. IUFRO Symp. Douglas-fir Prov. Göttingen: 207-215.
- (1974): Genetischer Abstand zwischen Populationen. II. Die Bestimmung des genetischen Abstands zwischen europäischen Fichtenpopulationen (*Picea abies*) auf der Basis von Isoenzym-Genhäufigkeiten. Silvae Genetica 23 (1-3): 28-32.
- (1975): Adaptive Acid Phosphatase Polymorphism in Conifer Seeds. Silvae Genetica 24: 5-6.
- BERGMEYER, H.U. (Ed.) (1970): Methoden der enzymatischen Analyse. Bd. 1, Bd. 2, Verlag Chemie, Weinheim, 2. Aufl.

- BIROT, Y. (1972): Variabilite infraspecifique du poids de la graine chez 1o Douglas (Pseudotsuga menziesii Mirb. Franco). *Silvae Genetica* 21 (6): 230-241.
- (1974): Reduction of variability in flushing time in relationship with the natural selective pressure within some populations of Douglas-fir from the State Washington - Consequences for the breeding program. IUFRO Joint meeting, Stockholm.
- BOOS, B. (1978): Nadeluntersuchungen von Douglasienklonen auf Reproduzierbarkeit der Peroxidase-Isoenzymbandenmuster während eines Jahres. Diplomarbeit, Univ. Freiburg.
- BRESCH, C.; HAUSMANN, R. (1972): Klassische und molekulare Genetik. Berlin, Heidelberg, New York: 3. erw. Aufl.
- BREWBAKER, J.L.; HASEGAWA, Y. (1975): Polymorphisms of the Major Peroxidases of Maize in: *Isozymes III. Developmental Biology* p. 659-673, Ed. by C.L. Markert, Ac. Press New York, San Francisco, London.
- BREWER, G.J. (Ed.) (1970): Introduction to Isozyme Techniques Academic Press, New York, London.
- BROWN, c.L., SOMMER, H.E. (1975): An Atlas of Gymnosperms Cultured in vitro: 1924-1974. Georgia Forest Research Council Macon, Georgia.
- CHENG, T.Y.; VOQUI, T.H. (1977): Regeneration of Douglas-fir Clantlets through Tissue Culture. *Science* 198: 306-307.
- v. CIRIACI-WANTRUP, M. (1975): Genetische Untersuchungen über multiple Formen der Alkoholdehydrogenase von *Saccharomyces cerevisiae*, Dissertation Univ. Freiburg.
- COCHRAN, W.G. (1954): Some Methods for Strengthening the Common 2 Tests. *Biometrics* 10 (4): 417-451.
- COPES, D.L. (1975): Isoenzyme Study of Dwarf and Normal Douglas-fir Trees, , *Bot. Gaz.* 136 (4): 347-352.
- COPES, D.L. (1978): Isoenzym Activities Differ in Compatible and Incompatible Douglas-fir Graft Unions *Forest Sci.* 24 (2): 297-303.
- CROW, J.P.; KIMURA, M. (1970): An Introduction to Population Genetics Theory, Harper and Row, Publishers, New York, Evanston and London.
- CZIHAK, G.; LANGER, H.; ZIEGLER, H. (Ed.) (1976): *Biologie, ein Lehrbuch für Studenten der Biologie*, Berlin, Heidelberg, New York.
- DENNA, D.W.; ALEXANDER, M.B. (1975): The Isoperoxidases of Cucurbita pepo in: *Isoenzymes II. Physiological Function*, p.851-864, Ed. by C.L. MARKERT, Ac. Press, New York, San Francisco, London.

- DIXON, M.; WEBB, E.C. (Ed.) (1967): Enzymes, 2nd Edition, 7th Impression, London.
- EFRON, Y. (1970): Alcohol Dehydrogenase in Maize: Genetic Control of Enzyme Activity. Science 170: 751-753
- EICHHORN, O. (1976): Dauerzucht von *Diprion pini* (L.) (Hym.: Diprionidae) im Laboratorium unter Berücksichtigung der Fotoperiode. Anz. Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz 49: 38-41.
- (1977): Autokologische Untersuchungen an Populationen an Populationen der gemeinen Kiefern-Buschhornblattwespe *Diprion pini* (L.) (Hym.: Diprionidae). Herkunftsbedingte Unterschiede im Schlupfverlauf und Diapauseverhalten. Ztg. angew. Entom. 82: 395-414.
- ELANDT-JOHNSON, R.C. (1971): Probability Models and Statistical Methods in Genetics. New York, London, Sydney, Toronto.
- EMMINGHAM, W.H. (1976): Running Title: Growth Comparisons of *Pseudotsuga*; Comparison of selected Douglas-fir seed sources for cambial and leadergrowth patterns in four Western Oregon Environments. For.Res.Lab. 1,024: 1-30.
- ESTERBAUER, H.; GRILL, D. (1977): Seasonal variation of Glutathione and Glutathione Reductase in Needles of *Picea abies*. Plant Physiol. 61: 119-121.
- ESTERBAUER, H.; GRILL, D.; ZOTTER, M. (1978): Peroxidase in Nadeln von *Picea abies* (L.) Karst.. Biochem.Physiol. Pflanzen 172: 155-159.
- FERET, P.P. (1972): Peroxidase Isoenzyme Variation in Interspecific Elm Hybrids. Can.J.For. Res. 2: 264-270.
- (1974): Genetic differences among three small stands of *Pinus pungens*. Theor.Appl.Genet. 44: 173-177.
- FERET, P.; BERGMANN, F. (1976): Gel Electrophoresis of Proteins and Enzymes in: Miksche, J.P. (Ed.) Modern Methods of Forest Genetics: 49-77.
- FERET, P.P.; STAIRS, G.R. (1971): Peroxidase Inheritance in Siberian Elm. Forest Sci. 17: 472-475.
- GAMBORG, O.L.; WETTER, L.R. (Ed.) (1975): Plant Tissue Culture Methods. Natn. Res. Council of Canada, Prairie Regional Laboratory Saskatoon, Saskatchewan
- GELLERT, W. et al. Eds. (1967): Großes Handbuch der Mathematik, Köln
- GREGORIUS, H.-R. (1974): Genetischer Abstand zwischen Populationen I. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. Silvae Genetica 23:

- HARDY, G.H. (1908): Mendelian Proportions in a Mixed Population
Science 28: 49-50.
- HATTEMER, H.H. (1978): Probleme in Population Genetic Conclusions
from Biochemical Marker Studies Umeå.
- HENSHAW, G.G. (1975): Technical aspects of tissue culture storage
for genetic conservation in: Crop Genetic Resources for
Today and Tomorrow International Biological Programme,
Vol. 2: 349-357, Cambridge University Press, Cambridge.
- HUHTINEN, O.; YAHIAOGLU, Z. (1974): Das frühe Blühen von aus Kallus-
kulturen herangezogenen Pflänzchen bei der Birke
(*Betula pendula* Roth). *Silvae Genetica* 23 (1-3): 1-98.
- HUHTINEN, O. (1976): Early flowering of Birch and its maintenance
in Plants regenerated through tissue culture.
Acta Horticulturae 56: 243-249.
- JACQUARD, A. (1974): The Genetic Structure of Populations
Berlin, Heidelberg, New York.
- KARLSON, P. (1972): Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
8. völlig neu bearbeitete Auflage, Stuttgart.
- KING, J.L. (1977): Reply to Allendorf. *Genetica* 87 (4): 822.
- KLEINSCHMIT, J.; MÜLLER, W.; SCHMIDT, J.; RACZ, J. (1973):
Entwicklung der Stecklingsvermehrung von Fichte
(*Picea abies* Karst.) zur Praxisreife.
Silvae Genetica 22 (1-2): 4-15.
- KLEINSCHMIT, J. (1974): Considerations regarding breeding programs
with Norway spruce (*Picea abies* Karst.).
IUFRO Joint meeting, Stockholm.
- (1977): Problems of Vegetative Reproduction (Inv. Special
Paper, Session 4: Constraints on Progress).
FAO/IUFRO FO - FTB - 77 - 4/5 The World Consultation
on Forest Tree Breeding, Canberra, Australia
- (1978): Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.)
Franco) in Germany. Mskr., IUFRO-Meeting, Vancouver, B.C..
- LARSEN, J.B. (1978): Die Frostresistenz von 60 verschiedenen
Douglasien-Herkünften sowie über den Einfluß der
Nährstoffversorgung auf die Frostresistenz der Douglasie.
Schriften aus der Forstl. Fakultät d. Univ. Göttingen
und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt.
Band 52: 1-126.
- LEE, T.T. (1973): On Extraction and Quantitation of Plant
Peroxidase Isoenzymes. *Physiol. Plant.* 29: 198-203.
- LEHNINGER, A.L. (1970): Biochemistry (The molecular Basis of Cell
structure and Function). New York
- LINDER, A. (1964): Statistische Methoden für Naturwissenschaftler,
Mediziner und Ingenieure, 4. Aufl. Basel, Stuttgart

- LIU, E.H. (1975): Substrate specifitnes of Plant Peroxidase Isozymes in: Isoenzymes II, Physiological Function Ed.: Markert, C.L.. Academic Press New York, San Francisco, London.
- LOOMIS, W.D. (1969): Removal of phenolic compounds during the isolation of plant enzymes in: Lowenstein (Ed.): Methods in Enzymology, Vol. 13: 555-563.
- LUCOTTE, G.; PERRAMON, A.; KAMINSKI, M. (1977): Molecular Basis for Heterosis in Chicken-Quail Hybrid Comp. Biochem. Physiol. 56 B: 119-122.
- MADER, M. (1974): Über Regulation und Lokalisation der Peroxidase-Isoenzyme in differenzierenden Kalluskulturen von *Nicotiana tabacum* L.. Diss. Universität Heidelberg.
- MADER, M.; MEYER, Y.; BOPP, M. (1975): Lokalisation der Peroxidase - Isoenzyme in Protoplasten und Zellwänden von *Nicotiana tabacum* L. Planta (Berl.) 122:259-268.
- MARKERT, C.L. (Ed.) (1975): Isoenzymes II. Physiological Function, III. Development Biology. The 3rd International Conference on Isoenzymes, Yale University, New Haven, Connecticut, April 18-20, 1974. Ac. Press. New York, San Franzisco, London.
- MARQUARDT, H. (1955): Über die wissenschaftlichen Grundlagen eines forstlichen Artgesetzes. AFZ 10 (4): 37-41.
- MAURER, H.R. (Ed.) (1968): Disk-Elektrophorese. Theorie und Praxis der diskontinuierlichen Polyacrylamidgel-Elektrophorese, Berlin.
- MEJNARTOWICZ, L.; BERGMANN, F. (1977): Variation and Genetics of Ribonucleases and Phosphodiesterases in conifer seeds. Can.J.Bot. 55: 711-717.
- MITTON, J.B.; LIMHART, Y.B.; HAMRICK, J.L.; BECKMANN, J.S. (1977): Observations on the genetic Structure and Mating System of Ponderosa Pine in the Colorado Front Range. Theor.Appl.Genet. 51: 5-13.
- MOHR, H. (1969): Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Berlin, Heidelberg, New York.
- MULLER, G. (1976): A simple Method of estimating rates of Self-fertilisation by analysing isozymes in tree seeds. Silvae Genetica 25 (1): 15-17.
- (1977): Untersuchungen über die natürliche Selbstbefruchtung in Beständen der Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.) und Kiefer (*Pinus silvestris* L.). Silvae Genetica 26: 5-6.

- MUHS, H.-J. (1971): Untersuchungen zur Populationsstruktur von verschiedenen Selektionslinien bei *Drosophila melanogaster* mit Hilfe der Isoenzymmethode. Diss. Univ. Freiburg i.Br.
- (1974): Distinction of Douglas-fir Provenances using Peroxidase-Isoenzyme-Patterns of Needles. *Silvae Genetica* 23 (1-3): 71-76.
- (1975): Isoenzyme Frequencies in Long-term Selection Lines of *Drosophila melanogaster*.
- I. Isoenzyme Frequencies of the Esterase (Est) and Larval Alkaline Phosphatases (Aph) in Temperature Selected Lines: pp. 101-108.
- II. Isoenzyme Frequencies of Leucine Aminopeptidases (LAP) in Selection Lines under Different Temperature Conditions: pp. 123-128.
- III. Isoenzyme Frequencies of the Esterases (Est) and Larval Alkaline Phosphatases (Aph) in Selection Lines for Short and Long Developmental Rate: pp. 191-195.
- IV. Isoenzyme Frequencies of Leucine Aminopeptidases (LAP) in Lines Selected for Short and Long Developmental Rate: pp. 215-220.
- Theor.Appl.Genet. 46: pp. siehe unter I. - IV..
- (1976): The Impacts of season and site on isoenzyme patterns of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco): Some preliminary results Discussion paper. XVI IUFRO - World Congress, Oslo.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapide growth and bioassays with tobacco cultures *Physiol Plant.* 15: 473-497.
- PAHLICH, E. (1972): Sind die multiplen Formen der Glutamatdehydrogenase aus Erbsenkeimlingen Conformer? *Planta* (Berl.) 104: 78-88.
- PAI, C.; ENDO, T.; OKA, H.-J. (1973): Genetic Analysis for Peroxidase Isozymes and their Organ Specificity in *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Can.J.Genet.Cytol.* 15: 845-853.
- PARK, Y.-G. (1977): Genetic Studies in Natural Populations of *Pinus densiflora*. Research Report No. 13 Institute of Forest Genetics, Office of Forestry, Suwon, Korea
- POULIK, M.D. (1957): Starch del Elektrophoresis in a Discontinuous-System of Buffers. *Nature* 180: 1477.
- RECK, S.O.; SZIKLAI, O. (1973): Juvenile-mature correlation in wood characteristics of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). Voluntary paper, Meeting on Provenance Research in Douglas-fir. IUFRO Göttingen.

- RIEGER, R.; MICHAELIS, A.; GREEN, M.M. (1968): A Glossary of Genetics and Cytogenetics. 3rd completely revised edition Berlin, Heidelberg, New York.
- ROHRIG, E. (1978): Vorwort in: Untersuchungen zur Bestandesbegründung der Douglasie. Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Band 52.
- RUDIN, D. (1974): Gene and Genotype Frequences in Swedish Scots Pine Populations - a Study by the Aid of the Isoenzyme Technique. Proceedings, IUFRO Joint Meeting S.o.2.o4 1-3, Stockholm.
- (1976) Application of Isozymes in tree breeding IUFRO Joint Meeting on advanced generation breeding, Bordeaux.
- SACHS, L. (1974): Angewandte Statistik, 4. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York
- SALCEDO, O.; ARAGONCILLO, C.; RODRIQUES-LOPERENA, M.A., CARBONERO, P.; GARCIA-OLNEDO, F. (1978): Differential allelic expression at a locus encoding an endosperm protein in tetraploid wheat. Genetics 89 (1): 147-156.
- SCANDALIOS, J.G. (1969): Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. Biochem. Genet. 3: 37-79.
- SHAHI, B.B.; CHU, Y.E.; OKA, H.I. (1969): Analysis of genes controlling peroxidase isozymes in *Oryza sativa* and *O. perennis*. Japan.J. of Genetics 44: 321-328.
- SHAW, C.R. (1975): The microsomal mixed function oxidases and chemical carcinogens in: Isoenzymes III. Developmental Biology: p. 809-819. Ed. by C.L. Markert. Ac. Press New York, San Francisco, London.
- SCHWAIER, R. (1967): Genetische Änderungen durch Chemikalien 2. Reziproke mitotische Rekombination. Ber. dtsch.Bott.Ges. 80 (8): 487-491.
- SONNENBICHLER, J. (1979): Advances in Chromatin Research, Naturwissenschaften 66:244-250
- STEINHAUER, A. (1976): Variation in isoenzyme patterns of callus culture extracts from Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*). Discussion paper, XVI. IUFRO World Congress, Oslo.
- STERN, K. (1961): Über den Erfolg eines über 3 Generationen geführten Auslese auf frühes Blühen bei *Betula verrucosa*. Silvae Genetica 10: 48-51.
- ; ROCHE L. (1974): Ecological studies 6, Genetics of Forest ecosystems, Berlin.
- ; KONIG, A.; HATTEMER, H.H. (1974): Beiträge zum geografischen Variationsmuster der Douglasie. Silvae Genetica 23: 53-58.

- SZIKLAI, O. (1963): Variation and inheritance of some physiological and morphological traits in *Pseudotsuga menziesii* var. *menz.* Ph. D. thesis, Univ. Brit. Col.
- (1973): Further Information on the variation of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) in its native habitat. IUFRO Göttingen.
- (1974): Juvenile-mature correlation. Proc. Joint Meeting, S. 02.04 1-3: 217-235, Stockholm.
- TEO, T.K.H.; HUHTINEN, O. (1975): The prospects of propagating and breeding trees in vitro. Planter, Kuala Lumpur 51: 223-230.
- TUSCO, F.F. (1963): A study of variability in certain Douglas-fir populations in British Columbia. Ph.D. thesis, Univ. Brit. Columbia.
- WAGNER, R.P.; SELANDER, R.K. (1974): Isozymes in Insects and their Significance.
- WINTON, L.L.; HUHTINEN, O. (1976): Tissue culture of trees in: Miksche, J.P. (Ed.) Modern Methods of Forest Genetics: 243-264. Berlin, Heidelberg, New York.
- ; VERHAGEN, S.A. (1977): Shoots from Douglas-fir Cultures. Can.J.Bot. 55: 1246-1250.
- WEINBERG, W. (1908): Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. Jahresh. Verein f. Vaterl. Naturk., Württemberg 64: 368-382.
- WOLTER, K.E.; GORDON, J.C. (1975): Peroxidases as Indicators of Growth and Differentiation in Aspen Callus Cultures. Physiol. Plant. 33: 219-223.
- YANG, J.C. (1975): Isoenzyme polymorphism in provenance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*). Ph.D. thesis, Oregon State University.
- YANG, J.O.; CHING, T.M.; CHING K.K. (1977): Isoenzyme Variation of Coastal Douglas-fir. I. A Study of Geografic Variation in Three Enzyme Systems. Silvae Genetica 26 (1): 10-18.
- Richtlinie des Rates der EWG vom 14.6.1966 über den Verkehr mit forstlichem Vermehrungsgut: 66/404/EWG
- Beschlußempfehlung des Ausschusses für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (10. Ausschluß) zu dem von der Bundesregierung eingebrachten Entwurf eines zweiten Gesetzes zur Aenderung des Gesetzes über forstliches Saat- und Pflanzgut. Deutscher Bundestag, 8. Wahlperiode, Drucksachen 8/174, 8/2674, 13.3.1979, Sachgebiet 790

7

ANHANG

71, Homogenisierlösung 1), 2)

Zur Herstellung der Rohextrakte wurde ein 0,05 M Tris-HCl-Puffer, pH 5,5, verwendet, in dem die folgenden Reagenzien gelöst waren:

Tween 80	1	%
Mercaptoethanol	0,2	%
Natriumthiosulfat	0,2	%
Dithioerythrit	10	mM
Ascorbinsäure	10	mM

72, Polyacrylamidgel-Elektrophorese

72,1 Anfertigung der Gele

72,11. Vorratslösungen

Lösung Nummer	Bestandteile 1) in wäßriger Lösung 2)	pro 100 ml	Volumenanteile zum Ansatz für	
			Trenngel	Sammegel
1	Tris Zitronensäure TMED	7,37 g ca. 0,88 g 0,46 ml	1	1
2(T)	Acrylamid Bis	30,0 g 0,8 g	2	
2(S)	Acrylamid Bis	20,0 g 2,5 g		2
3	Persulfat	0,14 g	4	4
4	Aqua dest.		1	1

Der Gelpuffer (Lösung 1) wird mit der Zitronensäure auf pH 8,6 eingestellt.

- 1) Tris = Tris-hydroxy-methyl-aminomethan
 EDTA = Äthylen-diamin-tetraessigsäure
 TMED = N,N,N',N'-Tetramethylen-diamin
 Bis = N',N'-Methylenbisacrylamid
 Persulfat = Ammonium-peroxo-disulfat
 PAA = Polyacrylamid

- 2) Alle wäßrigen Lösungen enthalten 0,1 mM EDTA

72,12. Gelpräparation

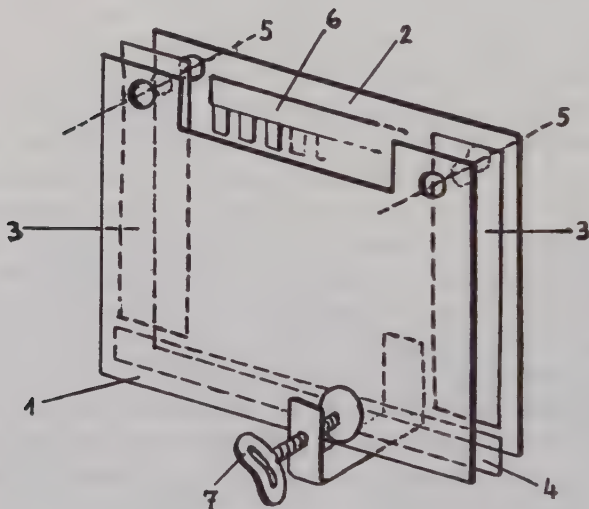
Die Vorratslösungen werden entgast und im Vakuum (Wasserstrahlpumpe) in dem angegebenen Mengenverhältnis vorsichtig (schaumfrei) und intensiv gemischt. Das Gemisch wird sofort in die mit Azetondampf gefüllte Gelform (Abb.1) bis zur gewünschten Höhe (Trennstrecke im Trenngel) gegossen und wieder mit Azetondampf überschichtet. Nach etwa 20 bis 30 Minuten ist das Trenngel auspolymerisiert. Ein Rest an überstehendem Puffer wird mit einer Injektionsspritze abgesaugt. Die Silikonstreifen (Nr. 3, Abb.1) werden, ohne die Gelform zu öffnen, wieder dicht an das Gel angeschoben. Danach wird die für das Sammelgel in gleicher Weise präparierte Lösung bis an die Kante der Glasplatte Nr.1 gegossen, und es wird sofort der Kamm (Nr.6) so eingesetzt, daß sich beim Polymerisieren des Sammelgels in dessen oberem Rand die Probetaschen zur Aufnahme der Rohextrakte bilden. Sobald das Gel fertig auspolymerisiert ist, was man an der Trübung des Sammelgels erkennt, werden der untere Silikongummistreifen (Nr.4) und der Kamm herausgezogen. Die Probetaschen müssen sorgfältig durch Einspritzen von aq.dest. gespült werden, so daß eine Veränderung ihrer Unterkanten - der Startlinie für die Elektrophorese - durch nachpolymerisierende Reste der Gellösung sicher vermieden wird. (Will man das Gel einer Vorelektrophorese unterziehen, so ist dafür Gelpuffer, nach POULIK 1957, als Elektrodenpuffer zu verwenden. Die Vorelektrophorese brachte keine Veränderung der Trennergebnisse mit dem hier untersuchten Material und wurde deshalb nicht durchgeführt.)

72,13. Elektrophorese

Der Elektrophoreseapparat (Abb.2) besteht aus einem quaderförmigen, oben offenen Kasten, der durch einen lotrecht in der Mitte eingeklebten, oben offenen (U-förmigen) Rahmen (Nr. 8 in Abb. 2 und 3) halbiert wird. Sobald man die Gelform mit dem fertigen Gel darin flach an ihn andrückt, teilt sie den Apparat in die beiden Kammern für den Elektrodenpuffer. Am Rahmen sind parallel zwei PVC-Schläuche (Nr. 10) eingeklebt, die durch das Andrücken der Platte (Nr.1) leicht gequetscht werden (durch

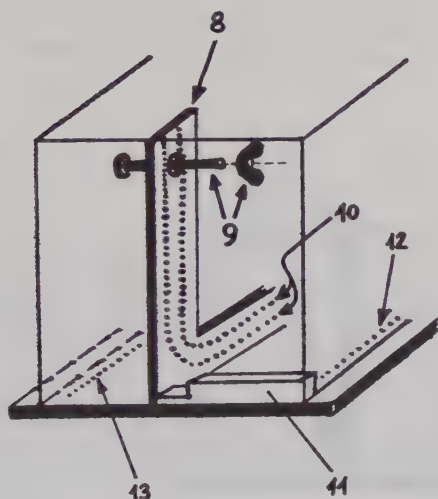
Einführen der Gelform wie in Abb. 3 gezeigt, hinter die Abstufung des Klemmblocks Nr.11, und sodann durch Anziehen der Flügelmuttern, Nr.9), so daß sie die beiden Pufferkammern gegeneinander abdichten und durch einen Luftstreifen trennen.

Abbildung 1: Gußform und Halterung für das PAA-Gel



- 1 Glasplatte mit einer rechteckigen Ausnehmung am oberen Rand, die den Zutritt des Puffers aus der kathodischen Kammer erlaubt
- 2 Platte zur vollständigen Trennung der beiden Pufferkammern (Anodenseite der Gelform)
- 3 seitliche und
- 4 unterer Silikongummistreifen zur Abdichtung der Gelform und Festlegung der Geldicke
- 5 Bohrungen durch alle Teile zur Aufnahme der Befestigungsschraube für die Gelform am Rahmen (siehe Abb.2)
- 6 PVC-Kamm zur Herstellung der Probetaschen
- 7 eine der Schraubzwingen zum Zusammenhalten und als Stativ für die Gelform während der Gelbereitung

Abbildung 2: Elektrophoreseapparat für lotrecht stehende Gele, Laufrichtung von oben nach unten mit gleichmäßiger Kühlung der Gele von beiden Seiten



- 8 Rahmen zur Befestigung der Gelform in der Mitte des Apparats
- 9 Flügelmutterschraube zum Andrücken der Glasplatte an die Dichtungsschläuche
- 10 die beiden im Rahmen Nr.8 etwas versenkt eingeklebten Dichtungsschläuche aus weichem PVC; zwischen ihnen bleibt nach Befestigen der Gelform ein Luftstreifen zur Trennung der beiden Elektroden-Pufferkammern stehen
- 11 Klemmblock zur Befestigung der Unterkante der Gelform
- 12) Platindrähte als Elektroden. In den vorliegenden Versuchen
- 13) wurde Nr.12 als Anode, Nr. 13 als Kathode geschaltet

Nach Einspannen der Gelform wird die Pufferkammer auf der Seite der Platte Nr.2 (in den Versuchen die Anodenkammer) mit Elektrodenpuffer in der Weise gefüllt, daß der Puffer in den 2mm dicken Spalt zwischen den beiden Glasplatten eindringt, welcher durch Entfernen des Silikongummistreifens Nr.4 entstanden ist, so daß auf der ganzen Länge der Kontakt mit der Gel-Unterkante hergestellt wird. Dann wird der Puffer auch in die andere Kammer bis ein wenig über die Kante der Ausnehmung in Platte Nr.1 eingefüllt, so daß nun auch der Puffer dieser Kammer mit dem Gel

Kontakt hat, und zwar mit dessen Oberkante, in der sich dabei die Probetaschen mit Puffer füllen.

Abbildung 3: Einsetzen der Gelform in den Elektrophoreseapparat (Ziffern wie bisher) Die Stufe im Klemmblock (Nr.11) ist so bemessen, daß sich die Gelform gut schräg einführen läßt und erst beim Spannen der Befestigungsschrauben gegen die Schläuche gedrückt wird

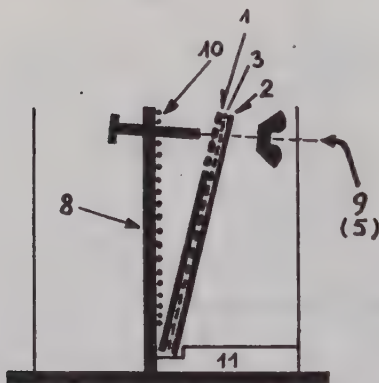
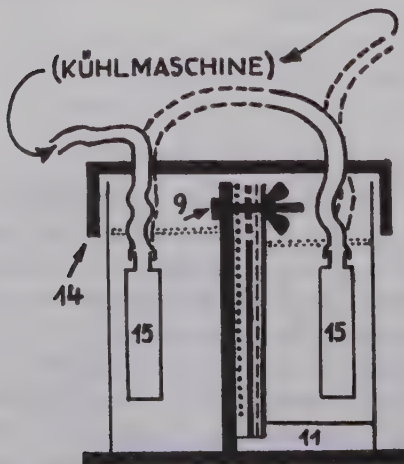


Abbildung 4: Fertigstellung des Apparats zur Elektrophorese



14 Deckel mit Kabelanschlüssen (diese nicht eingezeichnet) und Durchbrüchen für die Kühlschläuche

15 Kühlblöcke mit Schlauchverbindung zur Kühlmaschine

Die Füllhöhe der Pufferkammern ist durch eine doppelte Punktreihe angedeutet.

Sobald die mit Zucker beschwerten Extrakte in die Probetaschen unterschichtet sind, wird der Deckel (Nr.14) mit den an Schläuchen herabhängenden Kühlblöcken (Nr.15) aufgesetzt (Abb.4). Die Wärme, die sich infolge des elektrischen Widerstandes während der Elektrophorese im Gel entwickelt, wird von den in den Puffer eintauchenden Blöcken aufgenommen und sofort im Strom der Kühlflüssigkeit abgeführt. Durch Einstellung der Kühlmaschine auf +4°C konnte erreicht werden, daß die Temperatur in den Gelen nie über 20°C anstieg; ohne Kühlung wurden Temperaturen bis 45°C und darüber geschätzt. Erst bei aufgesetztem Deckel kann an die Elektroden die Spannung angelegt werden. Bei der hier angewendeten Schaltung (Elektrode 13 als Kathode, 12 als Anode) wurden diejenigen Proteine beobachtet, die unter den gegebenen Pufferbedingungen zur Anode wandern (Probenauftrag an der Kathodenkante des Gels).

73, Statistische Hilfsmittel

73,1 Chi-Quadrat-Anpassungstest

Die für die Ergebnisse der Nadelextraktzymogramme entwickelten Hypothesen wurden, wie im Abschnitt 32,12. erläutert, in den "Stufen 4 bis 6" quantitativ auf ihre Glaubwürdigkeit geprüft. Hierzu wurde ein Chi-Quadrat-Anpassungstest für zwei Merkmalsklassen mit einer Korrektur für kleine Stichproben (nach YATES aus LINDER, 1964, Kap. 31, Gleichung Nr.2a) angewendet. Der Ansatz lautet:

$$\chi^2 = \frac{(|\lambda a - b| - \frac{\lambda + 1}{2})^2}{\lambda(a + b)}$$

Darin haben die Symbole folgende Bedeutung:

	Merkmalsklasse	
	A	B
Erwartungswerte gemäß Hypothese	α	β
Experimentelle Beobachtung	a	b

$$\lambda = \frac{\beta}{\alpha}$$

Als Merkmale wurden beispielweise getestet:

	Klasse A	Klasse B	Schreibweise
erwartete bzw. beobachtete Anzahl der Nachkommen aus einer Kreuzung ...	"mit Bande e"	"ohne Bande e"	e:
	"mit Bande g"	"ohne Bande g"	g:
	"mit einer der beiden Banden e oder g"	"ohne Banden e oder g"	∅:

Dieser Test kann nicht angesetzt werden, wenn in einer der beiden Merkmalsklassen der Erwartungswert gleich Null ist. In diesem Falle mußte die Hypothese ohnehin bereits auf "Stufe 3" verworfen werden, wenn ein Beobachtungswert ungleich Null in derselben Merkmalsklasse auftrat; andernfalls wurde "völlige Übereinstimmung mit der Erwartung" festgestellt (Text S. 33).

Aus den sich für die jeweiligen Hypothesen errechnenden Werten für $\hat{\chi}^2$ wurde die Fehlerwahrscheinlichkeit erster Art, $\hat{\alpha}$, auf drei verschiedenen Wegen ermittelt:

- 1) durch logarithmische Interpolation nach den Tabellenwerten der χ^2 -Verteilung (SACHS 1974, Kap. 152); verwendet wurde der folgende Ansatz:

$$\hat{\alpha} = e^{\ln \hat{\alpha}}$$

$$\ln \hat{\alpha} = \frac{\hat{\chi}^2 - \chi_1^2}{\chi_1^2 - \chi_2^2} (\ln \alpha_1 - \ln \alpha_2) + \ln \alpha_2$$

Die Werte χ_1^2 und χ_2^2 bzw. α_1 und α_2 sind dabei die dem errechneten Wert $\hat{\chi}^2$ bzw. dem gesuchten $\hat{\alpha}$ benachbarten Tabellenwerte desselben Freiheitsgrades; es gelten für sie folgende Bedingungen:

$$\chi_1^2 > \hat{\chi}^2 > \chi_2^2$$

$$\alpha_1 < \hat{\alpha} < \alpha_2$$

- 2) durch exakte Berechnung für gerade Freiheitsgrade n nach folgendem Ansatz (ABRAMOWITZ and STEGUN, Eds., 1974):

$$\hat{\alpha}(\hat{\chi}^2, n) = e^{-\frac{\hat{\chi}^2}{2}} \cdot \left[1 + \frac{1}{1!} \left(\frac{\hat{\chi}^2}{2} \right) + \frac{1}{2!} \left(\frac{\hat{\chi}^2}{2} \right)^2 + \dots + \frac{1}{\left(\frac{n-2}{2} \right)!} \left(\frac{\hat{\chi}^2}{2} \right)^{\frac{n-2}{2}} \right]$$

- 3) durch Näherungsrechnung für ungerade Freiheitsgrade n nach folgendem Ansatz (ABRAMOWITZ and STEGUN, Eds. 1974):

$$\hat{\alpha}(\hat{\chi}^2, n) = \left(\frac{2}{\pi \cdot e^{\hat{\chi}^2}} \right)^{\frac{1}{2}} \cdot \left[P(\hat{t}) + \frac{\hat{\chi}}{1} + \frac{\hat{\chi}^3}{1 \cdot 3} + \frac{\hat{\chi}^5}{1 \cdot 3 \cdot 5} + \dots + \frac{\hat{\chi}^{(n-2)}}{1 \cdot 3 \cdot 5 \dots (n-2)} \right]$$

wobei $\hat{t} = \frac{1}{1 + r \hat{\chi}}$ mit $r = 0,2316419$

und $P(t) = p_1 t^1 + p_2 t^2 + p_3 t^3 + \dots$

mit

$p_1 =$	0,31938153
$p_2 =$	-0,356563782
$p_3 =$	1,781477937
$p_4 =$	-1,821255978
$p_5 =$	1,330274429
...	

Um die Spalten in den Tabellen übersichtlicher halten zu können, wurden die $\hat{\alpha}$ -Werte nicht, wie üblich, als Bruchteile von 1 sondern umgerechnet in % angegeben.

In keinem Fall unterschritt für eine beibehaltene Interpretation der Wert für $\hat{\alpha}$ die 10%-Grenze. Das bedeutet eine relativ starke Empfehlung, die Nullhypothesen (Experiment entspricht der Erwartung nach Mendelspaltung) beizubehalten, also eine relativ geringe Fehlerwahrscheinlichkeit zweiter Art ($\hat{\beta}$). In diesem Sinne ist es zu verstehen, wenn eine Teilinterpretation wegen ihrer "besseren Anpassung" bevorzugt wurde, wie z.B. die "Variantenkombination (B und D und E)(hh)" zu Ende des Abschnitts 32,12.22. Der Test wird somit "konservativ" aufgefaßt (SACHS 1974, Kap. 143).

73,2 Varianzanalyse

Um den Einfluß der Genotypen bei der Vererbung der "schwachen Banden" (Abschnitt 32,12.32) zu prüfen, wurde verglichen, ob die Häufigkeiten der Nachkommen mit diesen Banden verschieden waren je nachdem, ob die betreffende Bande im Phänotyp beider, nur eines oder keines von beiden Eltern beobachtet wurde (drei "Kreuzungstypen"). Hierzu wurde nach SACHS (1974, Kap.731, Tabelle 154) der folgende Ansatz für ungleiche Stichprobenumfänge n_i je Gruppe (hier: je Kreuzungstyp) eingesetzt:

$$\hat{F} = \frac{v_2}{v_1} \cdot \frac{B - K}{A - B}$$

wobei $v_1 = k - 1$ (Freiheitsgrade des Zählers)

$v_2 = n - k$ (Freiheitsgrade des Nenners)

$$\text{und } A = \sum_{i,j} x_{ij}^2 \quad B = \sum_i \frac{x_{i.}^2}{n_i} \quad K = \frac{1}{n} \cdot \left(\sum_i x_{i.} \right)^2$$

Erfüllt der errechnete Wert die Bedingung

$$\hat{F} < F|_{v_1, v_2, \alpha}$$

dann sind mit der (nach Tafel gewählten) Irrtumswahrscheinlichkeit die Stichproben (Index i ; Kreuzungstypen) mit ihren einzelnen Beobachtungen (Index j ; Nachkommen aus den verschiedenen Kreuzungen desselben Typs) nicht wesentlich voneinander verschieden.

Dieser Ansatz ist zulässig, wenn $i \geq 1 \leq k$
und $j \geq 1 \leq n$; diese Bedingungen waren bei den ausgeführten Berechnungen erfüllt.

73,3 Bestimmtheitsmaß

Als Mittel zur Darstellung des Zusammenhanges zwischen den Interpretationen aus "sicheren" und "sicheren plus unsicheren" Banden der Kallus-Zymogramme wurde das Bestimmtheitsmaß für die lineare Regression der Wertpaare R und R' als das Quadrat von deren Korrelationskoeffizienten berechnet (Abschnitte 32,21.1 und 32,21.21):

$$r^2 = \frac{\left[\sum R \cdot R' - \frac{1}{n} \cdot \sum R \cdot \sum R' \right]^2}{\left[\sum R^2 - \frac{1}{n} (\sum R)^2 \right] \cdot \left[\sum R'^2 - \frac{1}{n} (\sum R')^2 \right]}$$

(Ansatz nach SACHS 1974, Kap.542, und GELLERT et al. Eds. 1967, Abschnitt Statistik).

Sämtliche Berechnungen wurden mit dem programmierbaren Taschenrechner Hp 25 der Firma Hewlett-Packard ausgeführt.

Herrn Professor Dr. Dr. H. Marquardt danke ich für die Möglichkeit der Durchführung sämtlicher Experimente im Labor des Forstbotanischen Instituts der Universität Freiburg und für zahlreiche Anregungen und Ermutigungen bei der Fertigstellung der Arbeit.

Für anregende Diskussionen und Beratungen beim statistischen Teil der Auswertungen danke ich Herrn Professor Dr. Dr. h.c. M. Prodan sowie Herrn Dr. Ko und Herrn Dipl.-Math. M. Ziehe.

Den Anstoß zu dieser Arbeit gaben die Untersuchungen und Ideen von Herrn Professor Dr. H.-J. Muhs, dem ich hierfür und für die ersten grundlegenden Einweisungen in die Technik der Stärkegelelektrophorese Dank schulde.

Meinen Dank möchte ich auch Herrn Forstdirektor Dr. J. Kleinschmit für das überlassene Douglasienmaterial ausdrücken sowie auch ganz besonders Herrn Professor Dr. O. Eichhorn für zahlreiche anregende Diskussionen und die Überlassung des Materials aus seinen Blattwespenzuchten.

Bei der Anfertigung des Manuskripts halfen Frau B. Peter und Frau M. Götemann (Text) und Frau U. Rodeck (Zeichnungen); ihnen und Frau S. Müller, die in außerordentlich selbständiger Arbeit an einem beträchtlichen Teil der aufwendigen technischen Verfahren bei Elektrophorese und Gewebekultur mithalf, sage ich meinen besonders herzlichen Dank.

LEBENS LAUF

- 22.2.1942: Geboren in Iglau, Mähren
Eltern: Oberstudienrat Johann Steinhauer († 1974)
Dr. med. Johanna Steinhauer, geb. Panholzer
- 25.5.1945: Ausweisung nach Oesterreich (Perchtoldsdorf bei Wien)
- Herbst 1948 bis Herbst 1952:
Volksschule in Perchtoldsdorf
- Herbst 1952 bis Ende 1955:
Realgymnasium des Jesuitenkollegiums Kalksburg b.Wien
- Jan. 1956: Umzug in die Bundesrepublik Deutschland (Kassel)
- Anfg. 1956 bis Frühj. 1961:
Staatl. Wilhelmschule in Kassel (Höhere Schule)
- Feb. 1961: Abitur (Mathemat.-Naturwiss.)
- 4.4. bis 28.10.1961 und 15.3. bis 17.4.1962: Praktikum für
die Ausbildung im Hessischen Staatsforstdienst,
damals Zulassungsvoraussetzung (nach Eignungs-
prüfung) für das Forrststudium
- 2.11.1961: Beginn des Studiums an der Forstlichen Fakultät der
Universität Göttingen in Hann. Münden
- WS 1964/65 bis SS 1965: Studium an der Universität (damals Hoch-
schule) für Bodenkultur in Wien
- WS 1965/66 bis WS 1966/67: Fortführung des Forrststudiums in
Hann. Münden
- 10.3.1967: Abschluß des Studiums mit der Forstlichen Hochschul-
schlußprüfung (Dipl.-Forstwirt)
- 1.6.1967: Ernennung zum Referendar im Hess. Staatsforstdienst
- 1.3.1968: Entlassung auf eigenen Wunsch
- SS 1968 bis WS 1968/69: Studium an der Abteilung für Erziehungs-
wissenschaften an der Univ. Frankfurt (M.)
- 19.9.1969: Eheschließung mit Helga Nonn
- Jan. 1970 bis Sept. 1971: Wiss. Mitarb. am Forstzoologischen
Institut der Univ. Freiburg i. Br. (Prof. Dr. Dr.
G. Wellenstein)
- 9.6.1970: Geburt meiner Tochter Svea
- 20.9.1971: Geburt meiner Tochter Karen
- 1.10.1971 bis 31.3.1973: Fakultätsassistent im Dekanat der
Forstwissenschaftlichen Fak. der Univ. Freiburg i.Br.
- 1.4.1973 bis 5.12.1977: Wiss. Mitarb. am Forstbotanischen Inst.
der Univ. Freiburg i. Br.
- seit 6.12.1977: Wiss. Mitarb. am Lehrstuhl für Forstgenetik und
Forstpflanzenzüchtung der Forstlichen Fakultät der
Universität Göttingen

